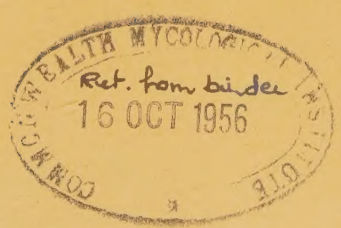
n.g. done 6-57


COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
Ret. from binder
16 OCT 1956

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. Takewo Hemmi, Kyoto / Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. Köhler, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Canberra / Prof. Dr. H. M. Quanjer, Wageningen Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest / Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann Zürich

M. Klinkowski Aschersleben

H. Richter Berlin-Dahlem

BAND 23

Mit 179 Abbildungen

1955

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Verlag für Landwirtschaft, Veterinärmedizin, Gartenbau und Forstwesen

BERLIN SW 68, LINDENSTRASSE 44-47

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten
Verlag Paul Parey, Berlin
Printed in Germany by A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36

INHALTSVERZEICHNIS ZUM 23. BAND

Gustav Gassner † 221

Abhandlungen

Baldacci, E., Betto, E., Amici, A., Il Metabolismo del fosforo nei tessuti verdi lesionati studiato con P^{32} 335

Bhattacharyja, S. S. und Linskens, H. F., Über den Einfluß von „Systox", „Metasystox" und „Pestox" auf die Kerne und Chromosomen von *Vicia faba*. Mit 9 Abb. 233

Bruhin, A., Über die polyploidisierende Wirkung eines Samenbeizmittels. Mit 12 Abb. und 2 Darstellungen 381

Canova, A., Una nuova forma di giallume della barbabietola. 10 Figure 161

Flück, V., Untersuchungen über die Pathogenität von Erregergemischen bei Getreidefußkrankheiten. Mit 14 Abb. 177

Gäumann, E. und Naef-Roth, St., Die Dosis-Effekt-Beziehungen bei Lycomarasmin und Komplexon III. Mit 2 Abb. und 2 Tabellen 141

Gäumann, E. und Naef-Roth, St., Über die chelierende Wirkung einiger Welketoxine. II. Die Verschiebungen der Toxizität durch steigende Zusätze von Asche aus jungen Tomatensprossen. Mit 3 Abb. und 8 Tabellen 147

Gassner, G. und Niemann, E., Über die Beeinflussung der Sporenkeimung des Zwergsteinbrandes und Roggensteinbrandes durch verschiedene Chemikalien. Mit 2 Abb. 121

Gassner †, G. und Niemann, E., Synergistische und antagonistische Wirkung von Pilzen und Bakterien auf die Sporenkeimung verschiedener *Tilletia*-Arten. Mit 10 Abb. 395

Gollmick, F., Untersuchungen über die Blattbräune (Melanose) der Reben. Mit 19 Abb. 249

Jaenichen, H. und Heimann, M., Untersuchungen über eine Anwendungsmöglichkeit des Ultraschalls in der Phytotherapie. Mit 13 Abb. 419

Klinkowski, M., Köhler, H. und Schrödter, H., Möglichkeiten der Desinfektion fettfleckenkranken Bohnensaatgutes durch Antibiotika unter Berücksichtigung des Einflusses meteorologischer Faktoren. Mit 17 Abb. 345

Köhler, E., Beitrag zum Prämunitiätsproblem; Studien am Tabakmosaik. Mit 2 Abb. 323

Köhler, E., Weitere Beiträge zur Kenntnis des Y-Virus der Kartoffel. Mit 2 Abb. 328

Linskens, H. F., Der Einfluß der toxigenen Welke auf die Blattausscheidungen der Tomatenpflanze. Mit 11 Abb. 89

Müller, E., Zwei neue *Ustilagineae* auf afrikanischen *Eriocaulaceae*. Mit 1 Abb. .. 107

Quantz, L., Ein Ringfleckenvirus von Buschbohnen. Mit 8 Abb. 209

Sauthoff, W., Über toxische Stoffwechselprodukte in Kulturfiltraten von *Botrytis cinerea* Pers. Mit 11 Abb. 1

Siebs, E., Untersuchungen über die Schorfresistenz von Birnen (III). Stofflicher Hinweis auf die Grundlagen der Blattschorfresistenz. Mit 2 Abb. 37

Turian, G., Recherches sur la nutrition, la variation et les propriétés antibiotiques de *Chaetomella horrida* Oud. Avec 5 figures 113

Zähner, H., Über den Einfluß der Ernährung auf die Toxinempfindlichkeit von Tomatenpflanzen. Mit 15 Abb. 49

Kurze Mitteilungen

Königsmann, E., Mißbildungen des Blütenstandes bei *Phleum pratense*. Mit 4 Abb. .. 468

Rosenstock, G., Physiologische und anatomische Studien zum Problem der Wundsetzung bei Speichergeweben. Mit 1 Abb. 463

Stalder, L., Beobachtungen über das Verhalten von *Podosphaera leucotricha* (Ellis et Everh.) Salm. in Apfelknospen. Vorl. Mitt. Mit 5 Abb. 341

Besprechungen

Besprechungen 110

Aus dem Institut für Botanik der Technischen Hochschule Hannover
Direktor: Prof. Dr. U. Ruge

Über toxische Stoffwechselprodukte in Kulturfiltraten von *Botrytis cinerea* Pers.

Von
W. Sauthoff

Mit 11 Abbildungen

INHALT: Einleitung, Material und Methoden. — 1. Kapitel. Nachweis phytotoxischer Prinzipien in Kulturfiltraten. — 2. Kapitel. Quantitativer Nachweis mit Hilfe eines antifungischen Testes. — 3. Kapitel. Toxinproduktion. § 1. Das Pilzwachstum in Abhängigkeit von der Vorbehandlung der Kulturgefäße. § 2. Kultur auf Fries II-Nährlösung in geätzten Gefäßen. § 3. Kultur auf Fries II-Nährlösung mit Agarzusatz. § 4. Toxizität der Kulturfiltrate und Myzelzuwachs bei steigender Dichte des Inoculums. § 5. Einfluß der Agarqualität. § 6. Einfluß der Agarkonzentration. § 7. Kultur auf verschiedenen synthetischen Nährlösungen. § 8. Bedeutung der Weinsäure. § 9. Kultur auf Fries II-Nährlösung mit steigenden Tartratkonzentrationen. § 10. Ersatz von Ammoniumtartrat durch Ammoniumcitrat. — 4. Kapitel. Oberflächenspannung der Kulturfiltrate. § 1. Orientierende Versuche. § 2. Literatur. § 3. Meßmethodik. § 4. Oberflächenspannung, Wachstum und antifungische Aktivität. — 5. Kapitel. Toxizität gegenüber höheren Pflanzen in Beziehung zu antifungischer Aktivität und Oberflächenspannung. — Diskussion. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

Einleitung

Den Ausgangspunkt der vorliegenden Arbeit bilden Untersuchungen zur Frage der induzierten Abwehrreaktionen (zusammenfassende Darstellung der Literatur bei Gäumann, 1946 und Hess, 1949). Dabei diente als Wirtspflanze *Pisum sativum* L. Die Wahl des Erregers fiel auf *Botrytis cinerea* Pers. Dieser Pilz erscheint besonders geeignet, da er auf Veränderungen der Anfälligkeit des Wirtes sehr empfindlich reagiert. Als Schwächeparasit bietet er zudem weitgehend Gewähr dafür, daß eine Herabsetzung der wirtspflanzlichen Vitalität durch unspezifische Schädigungen während der Vakzination nicht zu geringeren Krankheitsindizes führt, wie es bei parabiontischen Partnerschaften oft der Fall ist (vergl. Hess, 1949).

Die Kultur des Pilzes erfolgte auf synthetischer Nährlösung. In bestimmten Zeitintervallen nach der Impfung wurden Kulturfiltrate gewonnen und auf dem Wege der Vakuuminfiltration sofort zur Vakzination der Erbsenpflanzen herangezogen. Eine derartige praeinfektionelle Behandlung der Wirtspflanzen führte jedoch trotz sehr zahlreicher Versuche nicht zu eindeutigen Ergebnissen.

Angesichts dieser Schwierigkeiten mußte die im allgemeinen bisher übliche Verwendung von Vakzinationslösungen mit gänzlich unbekannter physiologischer Aktivität in besonderem Maße zu Bedenken Anlaß geben. Ein eingehendes Studium der Kulturfiltrate als Träger pathogener Agentien war deshalb unumgänglich.

Bei *Botrytis cinerea* sind aus zahlreichen Arbeiten über die Physiologie des Parasitismus bereits mehrere pathogene Prinzipien bekannt. So ist durch BROWN und seine Schule (z. B. BROWN, 1915) die Rolle der Pektinase eingehend studiert worden. GÄUMANN und BÖHNI (1947) konnten zeigen, daß Pektinase stets produziert wird, unabhängig davon, ob das Nährmedium Pektin enthält oder nicht (konstitutives Enzym) und daß der Pilz daneben als adaptives Enzym Pektase bildet, wenn Pektin zugegen ist. Nach AMMANN (1951) produziert *Botrytis cinerea* auch Zellulase.

Die Bedeutung dieser Enzyme für die Pathogenität unseres Pilzes ist insbesondere durch die Arbeiten von BROWN überzeugend demonstriert worden; doch mußte damit gerechnet werden, daß *Botrytis cinerea* außerdem noch andersgeartete aktive Prinzipien produziert, wie sie bei mehreren pilzlichen Parasiten bereits nachgewiesen werden konnten. Im Falle des *Fusarium lycopersici* Sacc. sind z. B. drei solcher Welketoxine bekannt geworden: Lycomarasmin (CLAUSON-KAAS, PLATTNER und GÄUMANN, 1947), Fusarinsäure (GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL, 1952) und Vasinfuscarin (GÄUMANN, STOLL und KERN, 1953).

Der Wirkungsmechanismus derartiger toxischer Prinzipien ist bisher wenig bearbeitet worden. Einige der untersuchten Stoffe schädigen die Plasmagrenzschichten (GÄUMANN, NAEF-ROTH, REUSSER und AMMANN, 1952). Dadurch wird die Wasserwegsamkeit der Protoplasten krankhaft erhöht.

Diese Vorstellung erscheint für unsere spezielle Fragestellung wesentlich, da Schädigungen ähnlicher Art von THATCHER (1939) in vivo auch in Zusammenhang mit *Botrytis cinerea* beobachtet wurden. THATSCHER brachte auf Blattstielen von *Apium graveolens* L. Lokalinfektionen an und untersuchte in Abhängigkeit von der Entfernung zu der vom Pilz verursachten nekrotischen Zone die Permeabilität des Selleriegewebes gegenüber Wasser. In geringer Entfernung von der Pilzläsion erreichte die Wasserpermeabilität relativ sehr hohe Werte und war noch im Abstand von 12 cm deutlich größer als in den Kontrollschnitten. Es geht dem Pilz somit eine ausgedehnte Wirkungszone voraus, die als Folge der Einflußnahme eines Toxins gut zu verstehen wäre. Im Anschluß an diese Ergebnisse THATCHERS ergibt sich für uns folgende Problemstellung:

1. Bildet *Botrytis cinerea* auf flüssigen synthetischen Nährmedien phytotoxisch wirksame Prinzipien? Wenn ja:

2. Wie können diese Stoffe quantitativ hinreichend genau nachgewiesen werden?

3. Wie sind die Kulturbedingungen zu wählen, um sicher reproduzierbar Kulturfiltrate mit möglichst hohen Toxinkonzentrationen zu erhalten?

Während der Durchführung der vorliegenden Arbeit erschienen mehrere Mitteilungen, die sich ebenfalls mit der Toxigenität von *Botrytis cinerea* befassen. Gentile (1951) konnte in Kulturfiltraten qualitativ ein phytotoxisches Prinzip nachweisen. Der Autor hat sich besonders um die Klärung chemischer Probleme bemüht, während in dieser Untersuchung die Bearbeitung biologischer Fragen für vordringlich gehalten wurde. Ribereau-Gayon, Peynaud und Lafourcade (1952 a und b) stellten fest, daß *Botrytis cinerea* bei Kultur auf Traubensaft ein Antibioticum produziert, das die Entwicklung von *Saccharomyces cerevisiae* hemmt. Weiterhin wird über Versuche zur vorliegenden Fragestellung von Sauthoff (1952) und Bazzigher (1953) berichtet.

Die Untersuchungen wurden im Jahre 1950 auf Anregung von Herrn Prof. Dr. Gäumann im Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich begonnen und ab Winter 1951/52 unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Ruge im Institut für Botanik der Technischen Hochschule Hannover fortgesetzt.

Material und Methoden

Pilzmaterial: Elf verschiedene Herkünfte von *Botrytis cinerea* wurden auf ihre Toxigenität geprüft. Die größte Leistungsfähigkeit zeigte eine von Citrus sinensis gewonnene Isolierung, die M. le Maître de Recherches Lansade, Centre de recherches agronomiques de Provence, Cap d'Antibes, Frankreich, freundlicherweise zur Verfügung stellte. Mit diesem Stamm wurden alle im folgenden mitgeteilten Versuche durchgeführt.

Stammkulturen: Die Notwendigkeit, die physiologische Aktivität des Pilzes über längere Zeit unverändert zu erhalten, macht eine sorgfältige Pflege der Stammkulturen erforderlich. Es empfiehlt sich, mehrere reichhaltige und ärmere organische Nährböden abwechselnd passieren zu lassen. Folgender Cyclus kam zur Anwendung: Pflaumensaftagar → Vollkornbrotagar → 0,5%-iger Malzagar → Spinatagar → Weizenstroh → Möhrenstücke. Die Weiterimpfungen erfolgten jeweils nach 8—14 Tagen. Außerhalb dieser Nährbodenfolge wurden in Erlenmeyerkolben Kulturen auf Vollkornbrotagar angelegt, um die Konidien zu gewinnen, die als Impfmaterial für die Versuche zur Toxinproduktion notwendig waren. Die Beimpfung dieses Vollkornbrotagars erfolgte stets mit Myzelflöckchen aus 2—3 Tage alten Pflaumensaftagarkulturen des oben beschriebenen Cyclus. Um jederzeit Kulturen für die Konidienproduktion ansetzen zu können, mußten somit 6 Stammkulturreihen nebeneinander gehalten werden.

Kultur auf synthetischer Nährlösung: Die Mehrzahl der Versuche wurde mit Fries II-Nährlösung + 100 γ/l Aneurin durchgeführt (Zusammensetzung s. S. 16). Dieses Medium ist wenig gebräuchlich. Es wurde trotzdem gewählt, weil seine Gesamtnährstoffkonzentration relativ gering ist. Das erschien wünschenswert, um die Gefahr von Nährlösungsschäden bei Vakzinationsexperimenten und Testversuchen mit höheren Pflanzen so gering wie möglich zu halten.

Für den Ansatz wurden Chemikalien der Firma MERCK vom Reinheitsgrad „pro analysi" verwandt. Das Ammoniumtartrat konnte nur als MERCK-Originalchemikal ohne Angabe des Reinheitsgrades bezogen werden. Die Glukose war „rein, entsprechend DAB 6". Das Wasser wurde vor Gebrauch zweimal über Jenaer Glas destilliert.

Als Kulturgefäße dienten ERLENMEYERkolben aus JENAer Glas der Serie ZG 20 mit 100 ml Fassungsvermögen. Sie wurden vor jedem Versuch mit heißem Wasser gründlich gesäubert und anschließend mehrfach mit A. bidest. gespült (vergl. S. 8). Pro Kolben wurden mit einer Pipette 30 ml Nährlösung abgefüllt. Die Sterilisation erfolgte im Autoklaven bei 1 Atm. Überdruck während 20 Min.

Geimpft wurde mit 1 ml einer Konidiensuspension von der Dichte 200 000/ml (Zählkammer nach THOMA). Die Konidienproduktion ist auf Vollkornbrotagar sehr reichlich. Beim Abschwemmen genügt es deshalb, ohne zu schütteln, geringe Mengen des Suspensionsmittels über die Oberfläche der Kultur laufen zu lassen. Dadurch wird vermieden, daß Bestandteile des Nährbodens mit aufgenommen werden.

Die Inkubation erfolgte unter Lichtabschluß in einem Wärmeschrank bei 24 ° C (± 0,5 °).

Zur Bestimmung des Myzeltrockengewichtes wurde das Pilzmyzel in tarierten Faltenfiltern (SCHLEICHER und SCHÜLL Nr. 588) aufgefangen, mit destilliertem Wasser von etwa 95° C gründlich ausgewaschen, 14 Stdn. lang bei 60° C vorgetrocknet, anschließend bis zur Gewichtskonstanz (4½ Stdn.) bei 105° C gehalten und zurückgewogen.

Die pH-Messungen der Nährlösungen und Kulturfiltrate erfolgten elektrometrisch mit Hilfe einer Chinhydronelektrodenkette. Die Verwendung dieser Apparatur zur Messung biologischer Medien ist nicht unproblematisch (vergl. z. B. KAUKO und KNAPPSBERG, 1938); doch wurde ein Auswandern des Meßfadens in keinem Fall beobachtet.

1. KAPITEL

Nachweis phytotoxischer Prinzipien in Kulturfiltraten

Versuchsfrage: Sind in Kulturfiltraten von *Botrytis cinerea* Stoffe enthalten, die gegenüber *Pisum sativum* toxisch wirken?

Die Erbsenpflanzen (Sorte 'Wunder von Amerika') wurden in KNOPscher Nährlösung angezogen. Für die Teste kamen abgeschnittene Sprosse von 12—15 cm Länge zur Verwendung. Die Kultur des Pilzes erfolgte in der oben angegebenen Weise. Das Filtrat wurde den Testpflanzen über den Transpirationsstrom verabreicht. Nach Aufnahme einer bestimmten Menge erfolgte die Umstellung auf Leitungswasser. Um vergleichbare Werte zu bekommen, mußte die Dosierung des zu testenden Kulturfiltrates auf das Frischgewicht bezogen werden. Es kommt darauf an, sie so zu bemessen, daß die Kontrollpflanzen bei Applikation der gleichen Menge reiner Nährlösung

desselben pH mit Sicherheit keine Schäden aufweisen. Die technischen Einzelheiten der Versuchsdurchführung entsprechen dem methodischen Vorgehen, wie es bei GÄUMANN und JAAG (1950) ausführlich beschrieben ist.

Die Versuche wurden in einem durch Leuchtstofflampen belichteten Kellerraum bei einer Lufttemperatur von 23—25° C und einer relativen Feuchtigkeit von 60—70 % durchgeführt.

Die Behandlung der Sprosse mit Kulturfiltraten hatte Schädigungen zur Folge. Die ersten visuell bemerkbaren Symptome zeigen sich in der Regel 12—14 Stdn. nach dem Einstellen in die Toxinlösung. Die größte Empfindlichkeit liegt offensichtlich bei den Nebenblättern. Sie werden zuerst und am stärksten geschädigt. Dann folgen die Blattspreiten der Hauptblätter. Anfänglich werden scharf umrissene Nekrosen beobachtet, die im auffallenden Licht dunkler, im durchfallenden Licht heller erscheinen als die noch intakte Blattfläche. Gelegentlich ist der Nekrosenrand rötlich verfärbt. Die Flecke breiten sich aus und gehen ineinander über, so daß im Endeffekt das ganze Blatt nekrotisch welk sein kann. Häufig bleibt eine kleine Zone in der Nähe des Blattstieles ungeschädigt. Am Stengel zeigen sich Nekrosen selten. Sie bleiben dann im allgemeinen auf die oberen Partien beschränkt. Die unteren Internodien sind zumeist wasserdurchtränkt. Diese Stengelteile erscheinen im auffallenden Licht dunkel olivgrün verfärbt. Im durchfallenden Licht sind sie heller als intakt gebliebene Partien, so daß die Leitbündel deutlich sichtbar werden.

Im Verlauf einer Kulturperiode des Pilzes waren immer nur einzelne Teste positiv. Die Gründe für diese Unregelmäßigkeiten lagen offensichtlich auf seiten der Pilzkultur; denn die Myzelproduktion war innerhalb eines Ansatzes uneinheitlich. Es fanden sich Kolben mit dicht geschlossener Myzeldecke und daneben solche mit vorwiegend submersem Wachstum, wobei zumeist einzelne unregelmäßige Myzelpusteln inselartig auf der Oberfläche schwammen. Das Mengenverhältnis dieser Wachstumstypen, die in verschiedenen Übergangsformen vorkamen, war von Versuch zu Versuch starken Schwankungen unterworfen. Nach längerer Inkubationszeit ging der Anteil der positiven Teste stark zurück, bis schließlich nur noch phytotoxisch inaktive Kulturfiltrate erhalten wurden.

Die zusammenfassende Auswertung dieser Versuche ergibt folgendes Bild:

1. Kulturfiltrate von *Botrytis cinerea* können Prinzipien enthalten, die gegenüber *Pisum sativum* toxisch wirksam sind.
2. Es entsteht der Eindruck, daß das aktive Prinzip nach einer gewissen Zeit aus der Nährlösung verschwindet.
3. Das Wachstum des Pilzes auf FRIES II-Nährlösung ist nach Form und Geschwindigkeit sehr uneinheitlich.

Tastversuche mit *Gossypium* und *Helxine soleirolii* REQ. zeigten, daß diese Pflanzen durch aktive Kulturfiltrate ebenfalls geschädigt werden. Die nachgewiesene Toxinwirkung ist somit nicht spezifisch auf *Pisum sativum* beschränkt.

2. KAPITEL

Quantitativer Nachweis mit Hilfe eines antifungischen Testes

Die quantitative Erfassung des im vorhergehenden Kapitel nachgewiesenen toxischen Prinzips mit *Pisum sativum* als Testpflanze wäre durchaus möglich; doch wird man bei einer derartigen Aufgabenstellung stets versuchen, eine der bekannten mikrobiologischen Nachweismethoden anzuwenden, die weniger umständlich und zudem exakter sind. Daher wurden verschiedene Mikroorganismen auf ihre Eignung als Testobjekt untersucht. Am empfindlichsten reagierten bisher die Brandsporen von *Ustilago zeae* (BECKM.) UNG., die deshalb im Sporenkeimungstest (BLUMER und KUNDERT, 1950) für alle folgenden Versuche Verwendung fanden.

Ustilago zeae ist zum Nachweis toxischer Stoffwechselprodukte schon mehrfach benutzt worden (KOBEL, 1951; KERN, 1952; GÄUMANN, NAEF - ROTH und KOBEL, 1952). Dieser Pilz ist als Testobjekt besonders geeignet, da die im Herbst gesammelten Brandsporen ein ganzes Jahr über keimfähig bleiben, so daß für längere Zeit einheitliches Material zur Verfügung steht.

Die Versuchsdurchführung, die sich kaum von der Methodik der oben zitierten Autoren unterscheidet, geht — kurz zusammengefaßt — folgenden Weg: Von der Toxinlösung wird in Reagensröhrchen eine Verdünnungsreihe hergestellt ($^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_8$, $^1/_{16}$, $^1/_{32}$, ... 0). Die Gläschen enthalten dann zunächst 1 ml. Anschließend wird 1 ml einer Sporensuspension (400 000 Brandsporen/ml) zugesetzt, so daß die Verdünnungsreihe jetzt mit der Konzentration $^1/_4$ beginnt. Je 2 Tropfen der verschieden konzentrierten Testlösungen werden auf Objektträger gegeben und in einer feuchten Kammer bei 27° C dunkel inkubiert. Die Auszählung der Keimergebnisse erfolgt nach 15 Stdn. und erfaßt in jeder Verdünnungsstufe wenigstens 200, in der Kontrolle 4—500 Brandsporen. Dementsprechend sind am Ergebnis eines Testes, der die Toxinwirkung bis zur 8. Verdünnungsstufe erkennen läßt, ca. 2000 Pilzindividuen beteiligt.

Auf Grund der Keimzahlen wird mit Hilfe des Probitverfahrens (FINNEY, 1947) die LD_{50} ermittelt, d. h. diejenige Konzentration des getesteten Kulturfiltrates, welche die Keimung auf die Hälfte des in der Kontrolle gefundenen Wertes herabsetzt. Um subjektive Fehler bei der Festlegung der Wirkungsgeraden auszuschalten, wurde die LD_{50} stets auf rechnerischem Wege bestimmt (BLUMER und KUNDERT, l. c.). Zur Kennzeichnung der Toxizität einer Lösung dient der reziproke Wert der LD_{50}, der in Einheiten *Ustilago zeae* ($E_{U.z.}$) ausgedrückt wird. Ein Kulturfiltrat mit der LD_{50} 0,5 % (Verdünnung $^1/_{200}$) hat somit 200 $E_{U.z.}$

Bei der Durchführung der Teste beginnt die Verdünnungsreihe mit der Konzentrationsstufe $^1/_4$. Die Stufe $^1/_2$ wurde mit Rücksicht auf eine ausreichende Pufferung der Testlösungen nicht einbezogen (vergl. unten). Die Toxizität der Kulturfiltrate läßt sich somit erst von etwa 2 $E_{U.z.}$ an aufwärts annähernd und erst von 4 $E_{U.z.}$ an aufwärts exakt berechnen. Lösungen mit weniger als 2 $E_{U.z.}$ werden als inaktiv protokolliert.

Auf die Zuverlässigkeit der Teste hat die Zusammensetzung der Lösung, in der die Sporen suspendiert werden, einen wesentlichen Einfluß. Es kommt

darauf an, optimale Keimungsbedingungen zu schaffen. Ist diese Voraussetzung nicht erfüllt, so können Nährlösungsbestandteile der Kulturfiltrate keimungsfördernd wirken. Dann aber ist die Keimungskurve als Maß für die Toxizität einer Lösung unbrauchbar. Deshalb ist zu fordern, daß gleiche Keimergebnisse erhalten werden, gleichgültig ob das Suspensionsmittel mit reiner Nährlösung oder mit Wasser auf die Hälfte verdünnt wird.

Die Suspensionslösung sollte zudem eine angemessene Pufferkraft besitzen. Strugger (z. B. 1938) konnte zeigen, daß der Verbleib von Vitalfarbstoffen in der Zelle vom pH-Wert der applizierten Farblösung bestimmt wird. Ein ähnliches Verhalten ist prinzipiell auch bei Toxinen denkbar. Wenn im Verlauf einer Pilzkultur starke pH-Verschiebungen stattfinden, könnte somit der Fall eintreten, daß die aktive Substanz einmal in das Plasma und ein anderes Mal in die Membran gelangt. Bei gleicher Toxinkonzentration würden dadurch wahrscheinlich wesentlich verschiedene Schädigungen erhalten werden.

Unter Berücksichtigung dieser Gesichtspunkte wurde als Suspensionsmittel für die *Ustilago*-Sporen folgende Nährlösung zusammengestellt: 20 g Glukose, 20 g Saccharose, 5 g Ammoniumtartrat, 0,5 g $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$, 2 g KH_2PO_4 (das ist viermal soviel, wie in Fries II enthalten ist), 10 Tr. einer 1%igen Lösung von $FeCl_3 \cdot 6\ H_2O$, 100 γ Aneurin, 2 g Askorbinsäure (Cebion, Merck), Aqua bidest. ad 1000 ml. Vor Zugabe der Askorbinsäure wurde die Lösung mit n/20 HCl auf pH 4,5 eingestellt.

Im Verlauf eines Wachstumsversuches, in dem Kulturfiltrate mit pH-Werten von 4,0—6,7 erhalten wurden, reichte die Pufferkraft dieser Lösung aus, um die Aziditätsschwankungen der Testlösungen von der Verdünnungsstufe $^1/_4$ an auf den Bereich pH 4,4—4,8 zu beschränken. Dagegen war die Pufferung in der Konzentrationsstufe $^1/_2$ ungenügend, so daß es zweckmäßig erschien, die Teste mit der Verdünnungsstufe $^1/_4$ beginnen zu lassen. (Aus technischen Gründen konnte bei diesen Messungen die Azidität der Askorbinsäure nicht berücksichtigt werden). Die *Ustilago*-Sporen keimten bei Anwendung der oben angegebenen Nährlösung sehr regelmäßig, meistens zu 60—70 %.

3. KAPITEL

Toxinproduktion

§ 1. Das Pilzwachstum in Abhängigkeit von der Vorbehandlung der Kulturgefäße

Im 1. Kapitel war festgestellt worden, daß das Wachstum von *Botrytis cinerea* auf Fries II-Nährlösung nach Form und Geschwindigkeit in den einzelnen Kulturgefäßen eines Ansatzes sehr unterschiedlich sein kann. Bazzigher (1953) beobachtete diese Erscheinung ebenfalls. Auch Blumer und Gondek (1946) teilen mit, daß die Entwicklung von *Botrytis cinerea* auf synthetischer Nährlösung schlecht sei. Sporenkeimungsteste mit *Ustilago zeae* ergaben dementsprechend innerhalb eines Ansatzes Schwankungen in der Toxizität der Kulturfiltrate einzeln geernteter Kolben zwischen 0 und 60 Eu.-z. Daraus erhellt

die Notwendigkeit, zunächst die Voraussetzungen für ein einheitliches Wachstum des Pilzes zu erarbeiten.

Da in jedem Versuch einige gut bewachsene Kolben mit erheblicher Myzelproduktion erhalten wurden, durfte angenommen werden, daß das unbefriedigende Wachstum nicht durch Nährstoffmangel verursacht sei. Die gleichmäßige, reichliche Myzelentwicklung des Pilzes auf FRIES II-Agar konnte mit bestimmten Vorbehalten als weitere Rechtfertigung einer solchen Deutung angesehen werden. Es lag somit nahe, die Unregelmäßigkeiten des Wachstums mit den Kulturgefäßen in Zusammenhang zu bringen.

Die ERLENMEYERkolben, die in der oben (S. 4) angegebenen Weise gereinigt worden waren, wurden deshalb mit A. dest. gefüllt und 1 Std. lang bei 1 Atm. Überdruck im Autoklaven gehalten. Das Wasser wurde ausgeschüttet, solange es noch heiß war. Anschließend kamen die Kolben für zwei Stunden in den Trockenschrank bei einer Temperatur von 180 ° C. Dadurch sollten etwa noch vorhandene organische Verunreinigungen zerstört werden.

Der Einfluß dieser zusätzlichen Vorbehandlung der ERLENMEYERkolben war in dem darauf folgenden Versuch deutlich zu erkennen: Das kräftige, gesunde Oberflächenwachstum fehlte fast ganz. Die Mehrzahl der Kolben zeigte einen an der Glaswand haftenden Myzelring und einzelne auf der Oberfläche frei schwimmende Myzelinselchen. In einem weiteren Teil der Gefäße wuchs der Pilz nur submers. Daneben wurde ein anderer, bisher noch nicht beobachteter Wachstumstyp festgestellt: In diesen Kolben entwickelte sich nach der Impfung zunächst eine gleichmäßige, geschlossene Myzeldecke, die von relativ wenigen Konidien ausging. Der größere Teil des Impfmaterials blieb am Boden und an den seitlichen Glasflächen haften und kam nach dem Auskeimen nicht zur Weiterentwicklung. Nach einer gewissen Zeit erschien das Oberflächenwachstum gehemmt. Es bildete sich kein gesundes Luftmyzel. Die auffallend glatte, leicht glänzende Oberfläche verfärbte sich braun und verblieb im allgemeinen bis zum Schluß der Versuche in diesem Zustand.

Es konnte somit angenommen werden, daß tatsächlich Verunreinigungen der Kolben für die Unregelmäßigkeiten des Wachstums verantwortlich seien. Daraufhin wurde nach der ersten Reinigung mit Leitungswasser eine 24 Stunden dauernde Ätzung der Kolben mit Chromschwefelsäure eingeschaltet. Die Kolben wurden danach 24 Stunden gewässert, gründlich gespült, noch einmal 24 Stunden gewässert, erneut mit Leitungswasser, dann mit A. dest. wiederholt gespült und anschließend in der oben angegebenen Weise (Autoklav, Trockenschrank) weiterbehandelt. Dieses Reinigungsverfahren wurde für alle weiteren Versuche der vorliegenden Arbeit beibehalten.

Nach dieser Vorbehandlung wurde ausschließlich der zuletzt beschriebene Wachstumstyp (s. o.) erhalten. Es besteht kaum ein Zweifel darüber, daß die braun verfärbte, im Wachstum sistierte Myzeldecke im Vergleich zu dem Verhalten des Pilzes auf festen Nährböden als pathologisch anzusehen ist. Dennoch war dieses Ergebnis für die weitere experimentelle Arbeit wichtig, weil erstmals eine gleichmäßige Entwicklung innerhalb eines Ansatzes erreicht wurde. Sporenkeimungsteste mit *Ustilago zeae* ließen erkennen, daß auch hinsichtlich der

Toxizität der Kulturfiltrate verschiedener Kolben keine wesentlichen Unterschiede bestanden.

Der „pathologische" Typus, der in den mit Chromschwefelsäure behandelten Kolben gleichmäßig auftritt, und das Wachstumsbild „geschlossenes kräftiges Oberflächenmyzel" sind wahrscheinlich Extremfälle. Kulturen mit ring- oder inselartigem Wachstum stellen nach dieser Deutung Übergangsformen dar, die unter dem Einfluß einer mehr oder weniger starken Verunreinigung der Kulturgefäße zustande kommen.

§ 2. Kultur auf Fries II-Nährlösung in geätzten Gefäßen

In den Experimenten des vorhergehenden Abschnitts war eine zwar pathologisch geschwächte, aber gleichmäßige Entwicklung von *Botrytis cinerea* auf synthetischer Nährlösung erreicht worden. Damit war die Möglichkeit gegeben, folgende vordringliche Fragen zu untersuchen:

1. Welche Beziehung besteht zwischen der Inkubationszeit und der Aktivität der Kulturfiltrate gegenüber *Ustilago zeae*?
2. Wie verändert sich das pH im Verlauf einer Kultur?
3. Welche Beziehung besteht zwischen Toxinproduktion und Myzelentwicklung?

Es wurden 30 Kolben beimpft und in bestimmten Zeitabständen jeweils 5 Kolben für die Durchführung der Teste entnommen.

Die Ergebnisse eines derartigen Versuches sind in Abb. 1 zusammengefaßt. Hier wie im folgenden stellen die Kurvenbilder eine Auswahl aus einem größeren Zahlenmaterial dar. Es werden nur Ergebnisse mitgeteilt, die in mehrfacher (im allgemeinen wenigstens 5maliger) Wiederholung sicher reproduzierbar waren.

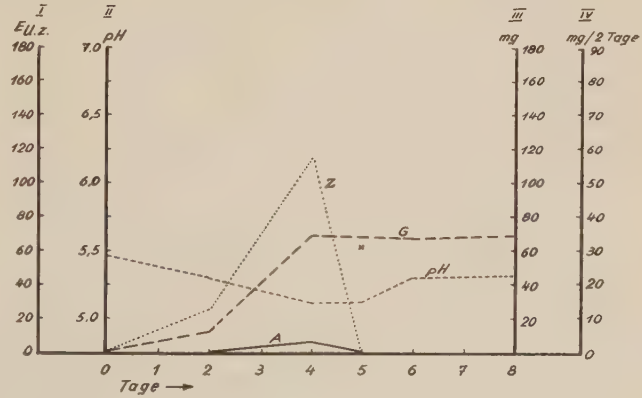


Abb. 1. Aktivität gegenüber *Ustilago zeae* (Ordinate I, Kurve A), pH (Ordinate II, Kurve pH), Myzeltrockengewicht (Ordinate III, Kurve G) und Myzeltrokkengewichtszuwachs / zwei Tage (Ordinate IV, Kurve Z) bei Kultur von *Botrytis cinerea* auf Fries II-Nährlösung in geätzten Gefäßen. (Abszisse: Inkubationszeit)

Die Kurve A in Abb. 1 läßt erkennen, daß die Toxizität der Kulturfiltrate gering ist. Der Höchstwert beträgt in diesem Experiment 5Eu.z. Im Durchschnitt von 6 Versuchen wurden 8Eu.z. erhalten. Das Maximum der Toxizität liegt in allen Versuchen am 4. Tage vor. Danach sinkt die Aktivitätskurve auf

0 ab. Das toxische Prinzip wird also schon während der Kultur abgebaut oder inaktiviert.

Das pH sinkt im Verlauf der Inkubation leicht ab und steigt anschließend wieder an. Die Differenzen bleiben jedoch zu gering, um sie zu der Aktivitätskurve in Beziehung bringen zu dürfen.

Die Myzeltrockengewichte (G) erreichen mit ca. 70 mg nur niedrige Höchstwerte. Allerdings ist gelegentlich zu beobachten, daß in einzelnen Kolben nach 8 bis 10 Tagen ein erneuter Myzelzuwachs einsetzt, der meistens pustelförmig vom Rand der Myzeldecke seinen Ausgang nimmt.

Der Myzeltrockengewichtszuwachs/2 Tge (Z) erreicht übereinstimmend in allen 5 Wiederholungen dieses Versuches sein Maximum zum Zeitpunkt der höchsten antifungischen Aktivität. Ohne daraus kausale Beziehungen ableiten zu wollen, durfte zunächst doch vermutet werden, daß eine Steigerung der Myzelproduktion auch erhöhte Toxizität der Kulturfiltrate zur Folge haben könnte. Über entsprechende Versuche wird im folgenden Abschnitt berichtet.

§ 3. Kultur auf FRIES II-Nährlösung mit Agarzusatz

Aus den Ergebnissen der Versuche des Abschnitts 1 war gefolgert worden, daß die dort beschriebenen unterschiedlichen Wachstumsformen von *Botrytis cinerea* mit Verunreinigungen der Kulturgefäße in Zusammenhang stehen. Für das weitere experimentelle Vorgehen ist durch diese Feststellung jedoch nur wenig gewonnen; denn der Pilz gedeiht um so schlechter, je mehr Mühe auf die Vorbehandlung der ERLENMEYERkolben verwandt wird.

Die Durchsicht der Literatur zeigte, daß eine ganz ähnliche Problematik in der Versuchsanstellung bei *Aspergillus niger* v. TIEGH. bereits bearbeitet worden ist. RIPPEL (1936) beobachtete bei Kultur auf flüssigem Nährmedium Wachstumsbilder, denen die bei *Botrytis cinerea* erhaltenen völlig entsprechen. Lediglich der oben beschriebene „pathologische" Typus trat in diesen Untersuchungen nicht auf. RIPPEL setzte der Nährlösung geringe Mengen Agar zu und konnte dadurch die störende Unregelmäßigkeit der Wachstumsformen beheben.

Es zeigte sich, daß *Botrytis cinerea* auf den Agarzusatz ebenfalls positiv reagiert. Dieser Befund bildet den Ausgangspunkt des folgenden Versuches.

Versuchsfrage: Wie verhalten sich Aktivität gegenüber *Ustilago zeae*, pH, Myzeltrockengewicht und Myzeltrockengewichtszuwachs im Verlauf einer Kultur, wenn der FRIES II-Nährlösung Agar in der Konzentration 1 ‰ zugesetzt wird?

Für die Versuche kam ein heller, sehr sauberer Fadenagar zur Verwendung. Dieser wurde 12 Stdn. in fließendem Leitungswasser und 24 Stdn. in A. bidest. gewässert und anschließend bei 60° C getrocknet. Die Kulturgefäße mit der Nährlösung (+ Agar) wurden 1 Std. nach Schluß der Sterilisation dem Autoklaven entnommen und bei Zimmertemperatur aufgestellt.

Die noch warme Nährlösung ist zu diesem Zeitpunkt völlig klar und läßt im Farbton keinen Unterschied zu den Ansätzen ohne Agar erkennen. Während

der Abkühlung zeigt sich dann eine deutliche Trübung des Mediums. Der Agar flockt also aus. Die entstehenden Teilchen sind jedoch so klein, daß sie auch bei unberührtem Stehenlassen einer solchen Lösung über mehrere Monate gleichmäßig suspendiert bleiben.

Nach der Impfung wird die Trübung durch die auskeimenden Konidien zunächst verstärkt. Dann ist zu beobachten, daß die entstehenden Myzelflöckchen nach oben wandern, so daß unter der Oberfläche eine dichtere Zone entsteht, während der untere Teil der Nährlösungsschicht fast trübungsfrei wird. Dieser Vorgang ist dem Aufrahmen der Fettpartikel in der Milch vergleichbar. Nur sehr vereinzelt bleiben ausgekeimte Konidien an den Glasflächen haften. Nach zwei Tagen ist bereits ein geschlossener Myzelschleier vorhanden. Dieser wird bis zum dritten Tage so weit verstärkt, daß die Nährlösung kaum noch durchscheint. Nach vier Tagen liegt eine mattweiße, in sich einheitliche Myzeldecke vor, die vom fünften Tage an unregelmäßig angeordnete Falten wirft, weil die zur Verfügung stehende Oberfläche für das kräftige Wachstum nicht ausreicht. Alle Kolben eines Ansatzes verhalten sich völlig gleich. Das Myzel verfärbt sich mit zunehmendem Alter mausgrau und verbleibt bis zum Schluß der Kultur in diesem Zustand, ohne wesentlich zu sporulieren.

Etwa am vierten Tage läßt die bis dahin bräunlich gelbe Nährlösung einen olivgrünen Stich erkennen, der sich am fünften Tage noch verstärkt und am sechsten Tage in ein sattes Gelbbraun umschlägt, das im Ton intensiver ist als die Farbe der reinen Nährlösung. Die Intensität dieser Färbung wird dann schwächer. Nach acht bis zehn Tagen erscheint die Nährlösung gelbgrau.

Die Ergebnisse der Messungen eines Versuches sind in Abb. 2 dargestellt:

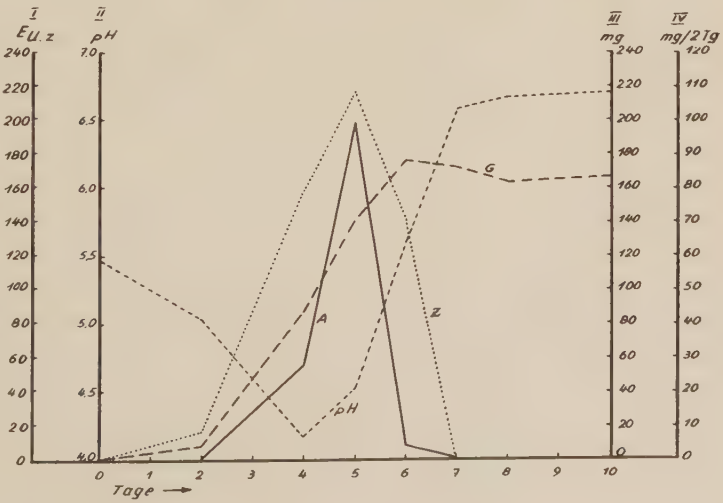


Abb. 2. Aktivität gegenüber *Ustilago zeae* (Ordinate I, Kurve A), pH (Ordinate II, Kurve pH), Myzeltrockengewicht (Ordinate III, Kurve G) und Myzeltrockengewichtszuwachs (Ordinate IV, Kurve Z) bei Kultur auf Fries II-Nährlösung + 1 ‰ Agar. (Abszisse: Inkubationszeit)

Die Kurve der antifungischen Aktivität (A) läßt erkennen, daß die Toxigenität von *Botrytis cinerea* durch den Agarzusatz erheblich gesteigert wird. Im vorliegenden Versuch wurden nach 5 Tagen 198 $E_{U.z.}$ erhalten. Der Durch-

schnittswert der Maxima von 7 Versuchen liegt bei 160 $E_{U.Z.}$. Das ist etwa 20mal mehr als bei Kultur auf FRIES II ohne Agar. Infolge der größeren Dimensionen wird der abrupte Abfall der Toxizitätswerte nach dem Überschreiten des Maximums besonders deutlich.

Der pH-Verlauf (pH) zeigt die in Abb. 1 nur leicht angedeutete Tendenz in verstärktem Maße: Nach einem erheblichen Abfall der Werte in den ersten Tagen kommt es zu einem noch stärkeren Anstieg gegen Schluß der Kultur. In der Mehrzahl der Versuche fallen das Maximum der antifungischen Aktivität und das pH-Minimum zeitlich zusammen. Der in Abb. 2 dargestellte Versuch ist ein Ausnahmefall. Er zeigt, daß zwischen beiden Größen keine direkt kausale Beziehung besteht.

Auch die Myzelproduktion (G) wird durch den Agarzusatz gesteigert. Der Höchstwert des Trockengewichtes liegt bei etwa 180 mg. Das ist rund $2^1/_2$mal soviel wie bei Kultur auf FRIES II ohne Agar erhalten wurde.

In allen Wiederholungen des vorliegenden Versuchs zeigt sich übereinstimmend, daß die größte antifungische Aktivität zur Zeit der höchsten Myzelzuwachswerte (Z) erreicht wird. Dieser Befund erscheint biologisch wesentlich. Es ergibt sich die Frage, ob die angedeutete Beziehung zwischen Wachstum und Toxinproduktion erhalten bleibt, wenn der zeitliche Ablauf der Myzelentwicklung verändert wird. Um das zu erreichen, wurde die Dichte des Inoculums variiert. Darüber berichtet der folgende Abschnitt.

§ 4. Toxizität der Kulturfiltrate und Myzelzuwachs bei steigender Dichte des Inoculums

Versuchsfrage: Wie verhalten sich Aktivität gegenüber *Ustilago zeae* und Myzeltrockengewichtszuwachs bei Kultur auf FRIES II-Nährlösung, wenn mit 1 ml der Konidiensuspensionen 200 000, 400 000, 800 000 Konidien/ml geimpft wird?

Die Ergebnisse eines derartigen Experimentes sind in Tab. 1 zusammengestellt.

Tabelle 1

Aktivität gegenüber *Ustilago zeae* und Myzeltrockengewichtszuwachs bei steigender Impfdichte

Impfdichte		Inkubationszeit in Tagen					
		2	3	4	5	6	7
200 000	$E_{U.Z.}$	0	—	66	**177**	5	0
	Zuwachs	16	—	78	**88**	46	28
400 000	$E_{U.Z.}$	0	52	**217**	23	0	0
	Zuwachs	26	76	**122**	36	46	0
800 000	$E_{U.Z.}$	0	79	**201**	11	0	0
	Zuwachs	38	60	**116**	62	24	8

Wie in den vorhergehenden Versuchen werden bei der Beimpfung der Nährlösung mit 200 000 Konidien das Maximum der antifungischen Aktivität

und das des Myzelzuwachses nach 5 Tagen erreicht. Bei Verwendung stärker konzentrierter Konidiensuspensionen erfolgt eine Vorverlegung der Toxizitätshöchstwerte auf den 4. Tag. Die Kurve der Myzelzuwachsraten verändert sich gleichsinnig. Die Maxima beider Größen fallen also auch unter den veränderten Versuchsbedingungen zeitlich zusammen (vergl. dazu S. 15).

§ 5. Einfluß der Agarqualität

Die bisherigen Versuche zeigen, daß die Zugabe von Agar zur Fries II-Nährlösung auf das Wachstum von *Botrytis cinerea* und die Toxizität der Kulturfiltrate entscheidenden Einfluß nimmt. Es war deshalb notwendig, die Reproduzierbarkeit der erhaltenen Ergebnisse bei Verwendung qualitativ unterschiedlicher Agarherkünfte zu überprüfen. Dabei ergab sich im Falle einer verhältnismäßig stark braun gefärbten unbekannten Agarherkunft etwa 5 bis 6 Stdn. nach der Impfung eine Entmischung von Agar und Nährlösung. Das Wachstum des Pilzes war nach Form und Geschwindigkeit sehr uneinheitlich. Das Maximum der antifungischen Aktivität betrug nur etwa 30 $E_{U.Z.}$. Durch kalte Extraktion des Agars mit einem Gemisch von Alkohol und frisch dest. Äther (1 : 1) konnte der Entmischungseffekt beseitigt werden. Dann lag bei normaler Myzelentwicklung das Maximum der Toxizität mit durchschnittlich 60 $E_{U.Z.}$ schon nach vier Tagen vor (1 ‰). Durch Erhöhung der Konzentration des so vorbehandelten Agars auf 1,25 ‰ konnte die antifungische Aktivität auf etwa 200 $E_{U.Z.}$ (Maximum nach vier Tagen) gesteigert werden. Dasselbe Ergebnis wurde erhalten, wenn Agar der Herkunft Kobe I (normal gewässert s. S. 10) in der Konzentration 1,0 ‰ ohne vorherige Extraktion mit organischen Lösungsmitteln zur Anwendung kam.

Diese Versuche lassen erkennen, daß an die Reinheit des der Nährlösung zugesetzten Agars bestimmte Ansprüche gestellt werden müssen; denn im Falle des braun gefärbten Agars unbekannter Herkunft waren die anfänglichen Wachstumsstörungen auf extrahierbare Verunreinigungen zurückzuführen. Die Agarkonzentration hat auf die Toxizität der Kulturfiltrate maßgeblichen Einfluß. Der zeitliche Ablauf der Kultur ist bei Zusatz von Agar verschiedener Herkünfte nicht gleich.

Für die weiteren Versuche wurde nur noch Agar der Herkunft Kobe I benutzt. Das Maximum der antifungischen Aktivität ist im folgenden also schon 4 Tage nach der Impfung zu erwarten (vergl. oben und S. 26).

§ 6. Einfluß der Agarkonzentration

Aus den Versuchen des vorhergehenden Abschnitts hatte sich ergeben, daß die Toxinproduktion von *Botrytis cinerea* auf eine Veränderung des Agargehaltes der Nährlösung um 0,25 ‰ sehr deutlich reagiert. Diese Empfindlichkeit macht es notwendig, den Einfluß der Agarkonzentration auf die Toxizität der Kulturfiltrate und auf das Wachstum eingehender zu studieren.

Versuchsfrage: Wie verhalten sich Aktivität gegenüber *Ustilago zeae* und Myzelproduktion, wenn der FRIES II-Nährlösung Agar in steigenden Konzentrationen zugesetzt wird?

Die Ergebnisse eines solchen Versuches sind in Abb. 3 und 4 zusammengestellt.

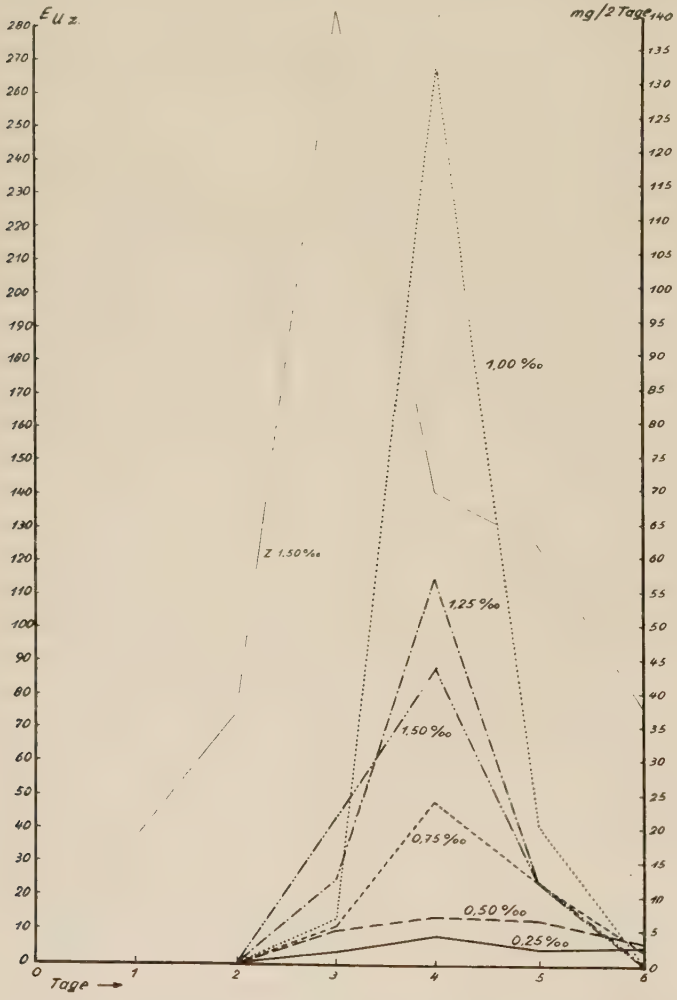


Abb. 3. Aktivität gegenüber *Ustilago zeae* (Ordinate links) bei steigendem Agargehalt der FRIES II-Nährlösung. Die Kurve Z 1,5 ‰ stellt den Myzelzuwachs / zwei Tge. (Ordinate rechts) bei der Agarkonzentration 1,5 ‰ dar. (Abszisse: Inkubationszeit)

Abb. 3 läßt erkennen, daß bei allen geprüften Agarkonzentrationen das Maximum der antifungischen Aktivität am 4. Tage der Kultur erreicht wird. Im einzelnen ergeben sich sehr starke Unterschiede in den Höchstwerten der Toxizität. Diese liegen zwischen 8 Eu.z. bei der Konzentration 0,25 ‰ und 265 Eu.z. bei einem Agargehalt von 1,0 ‰. Wird der Agarzusatz über die Konzentration 1,0 ‰ hinaus gesteigert, so fallen die Ergebnisse der antifungischen Teste wieder ab. Die Konzentrationen 1,25 ‰ und 1,5 ‰ sind also bereits überoptimal (s. Abb. 4). In den einzelnen Wiederholungen dieses Versuches, die teilweise mit noch enger beieinander liegenden Konzentrationsstufen durchgeführt wurden, ergaben sich geringe Schwankungen in der Lage des Optimums im Bereich 0,8—1,2 ‰; doch waren in diesen Fällen die Unterschiede in der

Toxizität zwischen den dem Optimum am nächsten liegenden Konzentrationen nur gering.

Die Myzelentwicklung, wie sie sich bei der Feststellung des Trockengewichtes am 6. Tage der Kultur darstellt, steht zur Menge des zugesetzten Agars in einem anderen Verhältnis als die antifungische Aktivität (Abb. 4). Im Bereich der in den vorliegenden Versuchen geprüften Konzentrationen wird das höchste Myzelgewicht bei einem Agarzusatz von 1,5 ‰ erreicht. Die Kurve zeigt von 0 bis 1,5 ‰ Agar steigende Tendenz, wobei der Meßwert, welcher der höchsten antifungischen Aktivität entspricht (1 ‰), eindeutig in der allgemeinen Linie liegt. Es ist somit festzustellen, daß durch steigende Agarkonzentrationen die Myzelproduktion zunehmend günstig beeinflußt wird, daß aber die Toxizität der Kulturfiltrate der Wachstumsförderung nur bis zu einem bestimmten Optimum folgt.

Dieser Befund erfährt eine wichtige Ergänzung durch die in Abb. 3 unter der Bezeichnung Z 1,5 ‰ aufgenommene Kurve des Myzelzuwachses bei einem Agargehalt der Nährlösung von 1,5 ‰. Im Gegensatz zu allen vorhergehenden Versuchen liegt hier erstmals der Fall vor, daß das Maximum der antifungischen Aktivität und das des Myzelzuwachses zeitlich nicht zusammenfallen. Zwischen diesen beiden Größen kann somit ein unmittelbarer Zusammenhang nicht bestehen.

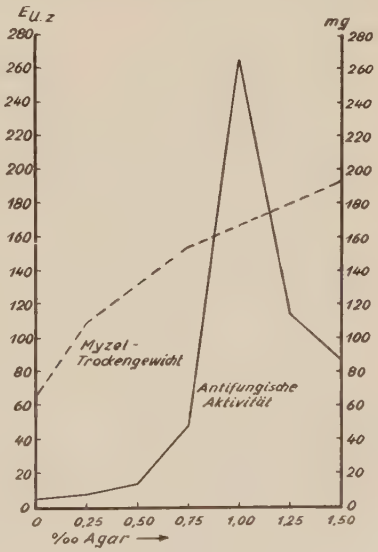


Abb. 4. Aktivität gegenüber *Ustilago zeae* nach vier Tagen (Ordinate links) und Myzeltrockengewicht nach sechs Tagen (Ordinate rechts) in Abhängigkeit vom Agargehalt der Nährlösung (Abszisse)

§ 7. Kultur auf verschiedenen synthetischen Nährlösungen

Die Verwendung der Fries II-Nährlösung in der vorliegenden Arbeit ist auf S. 3 begründet worden. Die dabei geltend gemachten Gesichtspunkte können im Rahmen der speziell auf die Toxinproduktion ausgerichteten Bemühungen jetzt jedoch außer acht gelassen werden. Es lag deshalb nahe, einige andere, qualitativ und quantitativ möglichst verschiedenartige Medien hinsichtlich ihres Einflusses auf Wachstum und Toxinproduktion von *Botrytis cinerea* zu untersuchen. Es wurden gleichzeitig nebeneinander folgende Nährlösungen geprüft:

FRIES II

20,0 g Glukose
5,0 g Ammoniumtartrat
0,5 g $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$
0,5 g KH_2PO_4
10 Tr. $FeCl_3 \cdot 6\ H_2O$ 1%ig
ad 1000 ml A. bidest.
Gesamtnährstoffkonzentration 2,6%

CZAPEK

30,0 g Saccharose
10,0 g NH_4NO_3
0,5 g $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$
1,0 g KH_2PO_4
0,5 g KCl
0,1 g $Fe_2(SO_4)_3$
ad 1000 ml A. bidest.
Gesamtnährstoffkonzentration 4,21%

RICHARD modif. nach LUZ (1934)

50,0 g Glukose
10,0 g NH_4NO_3
2,5 g $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$
5,0 g KH_2PO_4
0,02 g $FeCl_3 \cdot 6\ H_2O$
ad 1000 ml A. bidest.
Gesamtnährstoffkonzentration 6,75%

RAULIN

70,0 g Saccharose
4,0 g Weinsäure
4,0 g NH_4NO_3
0,6 g $NH_4H_2PO_4$
0,6 g K_2CO_3
0,4 g $MgCO_3$
0,25 g $(NH_4)_2SO_4$
0,07 g $Fe_2(SO_4)_3$
0,07 g K-Wasserglas
ad 1500 ml A. bidest.
Gesamtnährstoffkonzentration 5,3%

Alle Lösungen erhielten einen Zusatz von 100 γ/l Aneurin und 1 ‰ Agar.

Versuchsfrage: Wie verhalten sich Aktivität gegenüber *Ustilago zeae*, pH und Myzelproduktion bei Kultur auf den Nährlösungen FRIES II, CZAPEK, RICHARD modif. nach LUZ und RAULIN?

Während der Abkühlung nach der Sterilisation tritt die gewohnte, durch suspendierte Agarteilchen hervorgerufene Trübung der Nährlösung nur bei FRIES II auf. Die anderen Medien bleiben klar, zeigen jedoch einen geringen flockigen Bodensatz, der auch bei kräftigem Schütteln nicht in Lösung geht. Nach der Beimpfung ergibt sich bei jeder der 4 Nährlösungen ein anderes Bild. Innerhalb der einzelnen Serien ist das Wachstum sehr gleichmäßig.

Die FRIES II-Kulturen entsprechen mit ihrer geschlossenen, zunächst weißen Myzeldecke, wie auch in der Weiterentwicklung ganz der auf S. 11 gegebenen Beschreibung.

Das auf CZAPEK sich entwickelnde Myzel erscheint demgegenüber leicht gelblich und zeigt nicht die matte, watteartige Oberfläche wie bei FRIES II, sondern ist eigentümlich glänzend. Die Vegetationszentren, aus denen die niemals ganz dicht schließende Myzeldecke entsteht, bleiben bis zum Schluß der Versuche deutlich erkennbar. Die Masse des Impfmaterials keimt am Boden und an den seitlichen Glasflächen aus und bildet submers eine zweite, sehr dünne Myzelschicht. Nach 6-tägiger Kultur reißt das Oberflächenmyzel vom Glas ab und sinkt in der Nährlösung unter. Dabei bleibt ein 2—3 mm starker Myzelring an der Wandung des Kolbens haften.

Die Entwicklung auf RICHARD modif. nach LUZ ist im wesentlichen dieselbe wie auf CZAPEK, nur ist die oberflächlich entstehende Myzeldecke noch weniger dicht geschlossen; zudem reißt sie einige Tage früher von der Glaswand ab.

Das Wachstum des Pilzes auf RAULIN zeigt einige Besonderheiten. Das junge Myzel ist zunächst weiß wie bei FRIES II; doch ist die Oberfläche glänzend wie bei CZAPEK und RICHARD. Nach etwa 4 Tagen verfärbt sich das Myzel auffallend dunkel. Das Ablösen der Pilzdecke von der Glaswand und das Untersinken in der Nährlösung erfolgen zeitlich wie bei CZAPEK.

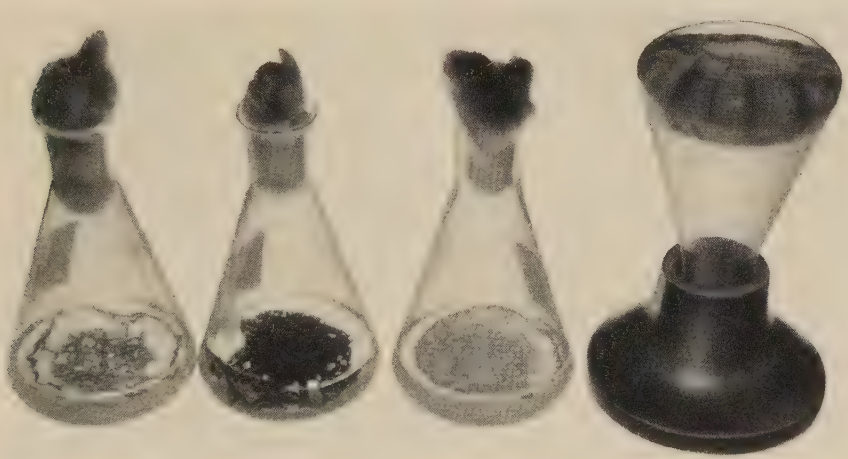


Abb. 5. Wachstumsbilder von *Botrytis cinerea* nach siebentägiger Kultur auf verschiedenen synthetischen Nährlösungen bei Zugabe von 1 % Agar. Von links nach rechts: RICHARD, RAULIN, CZAPEK, FRIES II. Der Kolben mit der FRIES II-Nährlösung wurde auf den Kopf gestellt; die Myzeldecke haftet so fest am Glas, daß sie die Nährlösung tragen kann

Die Ergebnisse der antifungischen Teste und der pH-Messungen sind in Tab. 2 und 3 zusammengestellt.

Tabelle 2

Aktivität gegenüber *Ustilago zeae* bei Kultur auf verschiedenen synthetischen Nährlösungen

Die Zahlen (EU.z.) sind Mittelwerte aus fünf Versuchen

Nährlösung	Inkubationszeit in Tagen					
	2	3	4	5	6	8
Fries II	0	25	285	57	12	0
Czapek	0	3	5	3	1	0
Richard	0	0	6	3	2	0
Raulin	0	9	20	21	10	0

Die Toxizität der Kulturfiltrate ist bei Kultur auf FRIES II weit stärker als auf allen anderen Medien. An zweiter Stelle folgt die Nährlösung nach RAULIN.

Tabelle 3

pH-Werte im Verlauf der Kultur auf verschiedenen synthetischen Nährlösungen
Die Zahlen sind Mittelwerte aus fünf Versuchen

Nährlösung	Inkubationszeit in Tagen						
	0	2	3	4	5	6	8
Fries II	5,6	4,7	4,3	4,1	4,7	5,4	6,8
Czapek	3,7	3,3	2,7	2,4	2,1	2.1	2,1
Richard	3,9	3,7	3,1	2,7	2,5	2,4	2,3
Raulin	3,1	3,0	2,7	2,4	2,1	1,9	1,9

Hinsichtlich des pH-Verlaufs (Tab. 3) nimmt die FRIES II-Nährlösung ebenfalls eine Sonderstellung ein: Die Werte fallen zunächst ab und steigen dann wieder an, wie es in Abb. 2 bereits dargestellt wurde. Demgegenüber zeigen die pH-Werte der Kulturfiltrate aller übrigen Medien vom Anfang bis zum Schluß eines Versuches stetig fallende Tendenz.

Das Myzeltrockengewicht wurde nur einmal im Verlauf eines Versuches bestimmt, und zwar am 4. Tage, zum Zeitpunkt der höchsten antifungischen Aktivität. Die Differenzen sind geringer als nach der visuellen Beurteilung der Wachstumsbilder zu erwarten war. Es überrascht, daß die Myzelproduktion auf RAULIN stärker ist als auf FRIES II. Die Werte von CZAPEK und RICHARD liegen etwa auf gleicher Höhe, und zwar etwas niedriger als die von FRIES.

§ 8. Bedeutung der Weinsäure

Im Anschluß an die Versuche des vorhergehenden Abschnitts ist zu fragen, warum die Toxinproduktion durch die FRIES II-Nährlösung günstig beeinflußt wird und warum die anderen Medien versagen. Bei diesen Überlegungen war nach den bisherigen Erfahrungen an erster Stelle das physikochemische Verhalten der einzelnen Nährlösungen zu berücksichtigen. Deshalb erschien die Beobachtung wichtig, daß die untersuchten Medien bis auf FRIES II bei Agarzusatz nach der Sterilisation klar bleiben und einen geringen Bodensatz erkennen lassen (vgl. S. 16). Es war daher wünschenswert, in einer der zunächst wenig geeigneten Nährlösungen möglichst dieselben physikochemischen Verhältnisse zu realisieren, wie sie in der FRIES II-Nährlösung vorliegen.

Tastversuche mit RICHARD zeigten, daß der Agar in diesem Medium ebenfalls suspendiert bleibt, wenn der Eisengehalt auf die bei FRIES vorgeschriebene Menge herabgesetzt wird und man das pH auf den entsprechenden Wert von FRIES (pH 5,5) einstellt. Auf der in dieser Weise modifizierten RICHARDschen Nährlösung wird das Maximum der antifungischen Aktivität in der Regel nach 4 Tagen erreicht. Im Durchschnitt von 4 Versuchen wurden 23 E.-z. erhalten.

Gegenüber den in Tab. 2 ausgewiesenen Testergebnissen bei Kultur auf unveränderter RICHARDscher Nährlösung wird somit die Toxizität der Filtrate durch die Verbesserung der physikochemischen Bedingungen nur unwesentlich gesteigert. Für die Überlegenheit der FRIES II-Nährlösung muß deshalb noch ein weiterer Faktor bestimmend sein. Ein Vergleich der Zusammensetzungen

beider Medien (vgl. S. 16) zeigt, daß der einzige qualitative Unterschied im Anion des als Stickstoffquelle fungierenden Ammoniumsalzes liegt. Während dieses bei RICHARD als Nitrat gegeben wird, liegt es bei FRIES II als Tartrat vor. Es erscheint daher denkbar, daß die Weinsäure auf die Toxinproduktion maßgeblichen Einfluß hat. Von dieser Vorstellung geht das folgende Experiment aus.

Versuchsfrage: Wie verhalten sich Aktivität gegenüber *Ustilago zeae*, pH und Myzelproduktion bei Kultur auf FRIES II, auf RICHARD in qualitativ unveränderter Zusammensetzung und mit Zusatz von Ammoniumtartrat?

Die RICHARDsche Nährlösung wurde in beiden Fällen mit n/20 NaOH auf pH 5,5 eingestellt. Der Eisenzusatz erfolgte in der bei FRIES II vorgeschriebenen Menge. In der Serie RICHARD mit Ammoniumtartrat wurden 5 g von insgesamt 10 g Ammoniumnitrat durch Ammoniumtartrat ersetzt.

Nach der Sterilisation tritt in allen 3 Reihen gleich stark die typische Agartrübung auf, wie sie nach den bisherigen Erfahrungen als wünschenswert angesehen wird. Die Entwicklung des Pilzes läßt auf den verschiedenen Nährlösungen anfänglich keine Unterschiede erkennen. Nach 5—6 Tagen reißt dann in der Serie „RICHARD ohne Tartrat" die Myzeldecke vom Glas ab und sinkt im Nährmedium unter, während sie in dem Ansatz „RICHARD mit Tartrat" genau so wie in der FRIES II-Reihe fest am Glas haften bleibt.

Die Ergebnisse der antifungischen Teste und der pH-Messungen sind in Abb. 6 dargestellt. Zur besseren Gesamtübersicht wurden die entsprechenden Werte der Tab. 2 (RICHARDsche Nährlösung unverändert + 1 ‰ Agar) mit eingezeichnet.

Die durch Verbesserung der physikochemischen Bedingungen erreichte Steigerung der Toxizität von 6 auf ca. 20 Eu.z., wie sie sich aus dem Vergleich der Kurven Ri_1 und Ri_2 ergibt (Abb. 6), ist bereits besprochen worden (S. 18). Demgegenüber ist eine weit stärkere Förderung der Toxinproduktion festzustellen, wenn die Kurven Ri_2 und Ri_3 zueinander in Beziehung gesetzt werden. Die Vermutung, daß die Weinsäure für die Produktion des mit *Ustilago zeae* getesteten Prinzips eine Rolle spielt, erscheint demnach gerechtfertigt. Abb. 6 läßt weiterhin erkennen, daß trotz der verschiedenen an der RICHARDschen Nährlösung vorgenommenen Änderungen die Überlegenheit der FRIES II-Nährlösung erhalten bleibt.

Bei Kultur auf FRIES II ergibt sich der typische, zunächst abfallende, dann wieder ansteigende pH-Verlauf (Abb. 6). In den Serien Ri_1 und Ri_2 zeigt sich eine stetig fallende Tendenz der Werte bis zum Schluß des Versuches. Der Kurvenverlauf bei Kultur auf „RICHARD mit Tartrat" (Ri_3) nimmt offensichtlich eine Mittelstellung ein, die als Resultierende aus den Wirkungen von Nitrat-Ionen einerseits und Tartrat-Ionen andererseits gedeutet werden könnte.

Mit den pH-Verschiebungen steht das Verhalten des Oberflächenmyzels möglicherweise in Zusammenhang; denn nur bei FRIES II und „RICHARD mit Tartrat" bleibt die Myzeldecke fest am Glas haften, während sie sich in allen Serien mit stark fallenden pH-Werten von der Kolbenwand ablöst und in der Nährlösung untersinkt.

Die am 4.Tage der Pilzkultur festgestellten Myzeltrockengewichte ergeben bei Ri_2 und Ri_3 – also unabhängig davon ob Tartrat zugesetzt wird oder nicht – etwa 170 mg/ERLENMEYERkolben. Demgegenüber liegt der entsprechende Wert bei FRIES II mit durchschnittlich 120 mg um etwa 1/3 niedriger. Diese Tatsache erscheint im Zusammenhang mit den jeweiligen Ergebnissen der antifungischen Teste biologisch wesentlich.

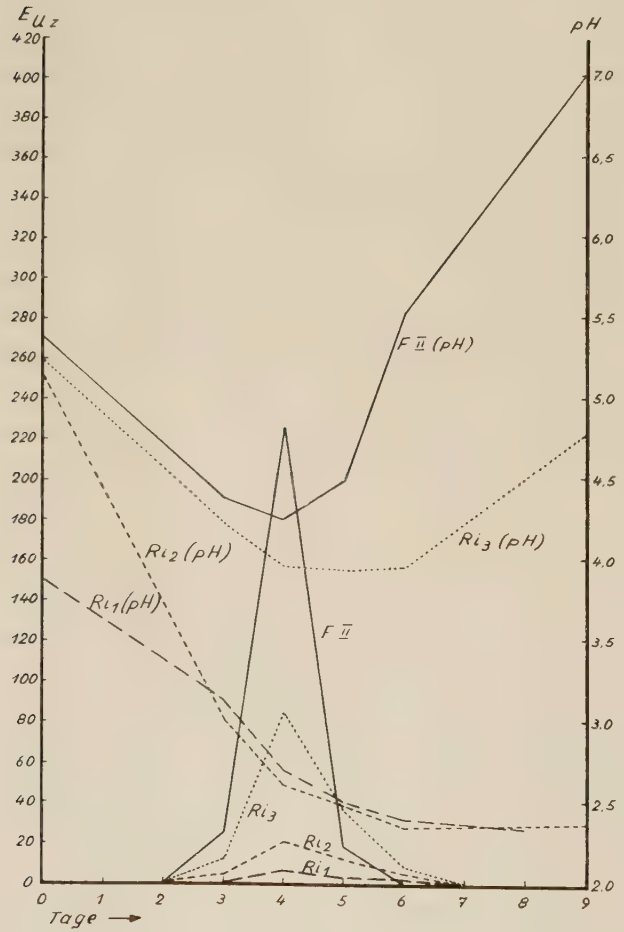


Abb. 6. Aktivität gegenüber *Ustilago zeae* (Ordinate links) und pH (Ordinate rechts) bei Kultur auf verschieden modifizierter RICHARDscher Nährlösung und FRIES II. (Abszisse: Inkubationszeit). Ri_1 = RICHARD unverändert (Werte der Tab. 2 entnommen). Ri_2 = RICHARD qualitativ unverändert, pH und Eisengehalt entsprechend FRIES II, Ri_3 = Ri_2, aber 5 g Ammoniumnitrat durch 5 g Ammoniumtartrat ersetzt

Auf Grund der Ergebnisse des vorliegenden Versuches ist zunächst eine Aussage über die Bedeutung der Weinsäure für die Toxinproduktion nur mit mehreren Vorbehalten möglich. Es erscheint deshalb wünschenswert, die behandelte Fragestellung ergänzend von einer anderen Seite her experimentell anzugehen.

Versuchsfrage: Wie verhalten sich Aktivität gegenüber *Ustilago zeae*, pH und Myzelproduktion, wenn in der FRIES II-Nährlösung das Tartrat durch Sulfat ersetzt wird?

Die Verwendung von Ammonium s u l f a t ergab sich zwangsläufig: Tastversuche mit A.-chlorid verliefen unbefriedigend; denn es war nicht möglich, den Agar suspendiert zu erhalten. A.-karbonat erwies sich als ungeeignet, weil die Nährlösung stark alkalisch wurde. A.-nitrat kam nicht in Betracht, weil dessen Einführung in die Nährlösung gleichzeitig den Stickstoffgehalt variieren würde.

Der visuelle Vergleich der mit Ammoniumsulfat und mit Ammoniumtartrat angesetzten Lösungen läßt hinsichtlich der Agartrübung nach der Sterilisation keinen Unterschied erkennen. Das Pilzwachstum verhält sich anfänglich qualitativ gleich. Die Myzelmenge ist in den Gefäßen des Ansatzes „Fries II mit Sulfat" jedoch geringer (Myzeltrockengewicht nach vier Tagen durchschnittlich 80 mg/Erlenmeyerkolben gegenüber 120 mg bei Kultur auf der unveränderten Nährlösung). Nach 5—6 Tagen reißt in der mit Ammoniumsulfat angesetzten Serie das Myzel von der Glaswand ab und sinkt in der Nährlösung unter. Das entspricht ganz dem Verhalten des Pilzes, wie es im vorhergehenden Versuch bei den Richardschen Nährlösungen beobachtet wurde, wenn diese kein Tartrat enthielten. In Übereinstimmung damit steht der pH-Verlauf, der auch in der Serie „Fries II mit Sulfat" fallende Tendenz bis zum Schluß des Versuches zeigt (Tab. 4).

Tabelle 4

Aktivität gegenüber *Ustilago zeae* und pH-Verlauf bei Kultur auf Fries II-Nährlösung mit und ohne Tartrat

		Inkubationszeit in Tagen				
		0	3	4	5	7
$E_{U.z.}$	mit Tartrat	0	18	**304**	6	0
	ohne Tartrat	0	0	**4**	3	0
pH	mit Tartrat	5,4	4,2	4,2	4,6	6,9
	ohne Tartrat	4,7	2,6	2,4	2,4	2,3

Der Ersatz des Ammoniumtartrats durch Ammoniumsulfat hat auf die antifungische Aktivität der Kulturfiltrate wesentlichen Einfluß. In dem der Tabelle 4 zugrunde liegenden Versuch wurden nach vier Tagen in der Serie „mit Tartrat" 304 $E_{U.z.}$ erhalten gegenüber nur 4 $E_{U.z.}$ in der weinsäurefreien Nährlösung.

Unter Berücksichtigung der Ergebnisse des vorhergehenden Versuches ist deshalb die Schlußfolgerung berechtigt, daß die Toxinproduktion durch das Tartrat-Ion entscheidend gefördert wird. Die Überlegenheit der Fries II-Nährlösung gegenüber den anderen untersuchten synthetischen Medien beruht zu einem guten Teil auf dem Gehalt an Ammoniumtartrat.

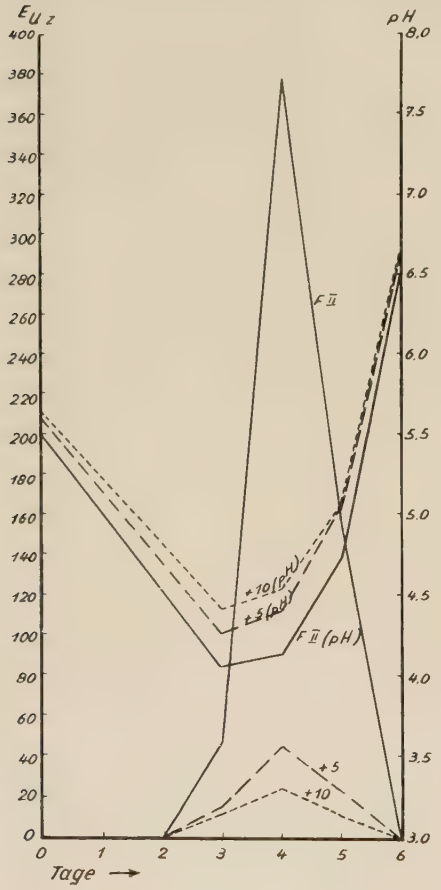
§ 9. Kultur auf Fries II mit steigenden Tartratkonzentrationen

Die Feststellung, daß die Toxinproduktion durch Weinsäure gefördert wird, legt die Frage nahe, ob der Tartratgehalt der Fries II-Nährlösung optimal ist. Es wäre denkbar, daß durch zunehmende Weinsäuregaben eine weitere Steigerung der antifungischen Aktivität erreicht werden kann.

Versuchsfrage: Wie verhalten sich Aktivität gegenüber *Ustilago zeae*, pH und Myzelproduktion bei Kultur auf Fries II-Nährlösung mit gesteigertem Tartratgehalt?

Die Fries II-Nährlösung enthält 5 g Ammoniumtartrat pro l. Um den Stickstoffgehalt unverändert zu lassen, wurde die Steigerung der Tartratkonzentration durch Zugabe von 5 g und 10 g Natrium tartrat vorgenommen.

Auf das Verhalten des Agars hat der Natriumtartratzusatz keinen Einfluß. Im Wachstumsbild des Pilzes sind innerhalb der einzelnen Serien Unterschiede nicht zu erkennen. Auch die Myzeltrockengewichte nach 4 Tagen liegen bei allen Lösungen auf gleicher Höhe.



Die Ergebnisse der antifungischen Teste und der pH-Messungen sind der Abb. 7 zu entnehmen.

Das Maximum der Toxizität wird einheitlich für alle verwendeten Lösungen nach 4 Tagen erreicht und beträgt 376 Eu.z. bei Kultur auf unveränderter Fries II-Nährlösung, 42 Eu.z. in der Serie „+ 5" und nur 22 Eu.z. in der Serie „+ 10". Die Zugabe von Natriumtartrat zu Fries II führt also nicht zu einer Steigerung, sondern im Gegenteil zu einer Verminderung der Toxizität. Es ist nicht ausgeschlossen, daß der Tartratgehalt von Fries II bereits überoptimal ist.

Die pH-Kurven der verschiedenen Serien haben stets dieselbe Tendenz; die Werte liegen dicht beieinander.

Abb. 7. Aktivität gegenüber *Ustilago zeae* (Ordinate links) und pH-Verlauf (Ordinate rechts) bei Kultur auf Fries II mit Zusatz von Natriumtartrat. (Abszisse: Inkubationszeit). F II = Fries II, + 5 = Fries II + 5 g Natriumtartrat. + 10 = Fries II + 10 g Natriumtartrat

§ 10. Ersatz von Ammoniumtartrat durch Ammoniumcitrat

Selbstverständlich konnte es im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht möglich sein, den stoffwechselphysiologischen Mechanismus der Toxinbildung aufzuklären. Dennoch erschien es notwendig, die in § 8 und 9 angeschnittene Problemstellung wenigstens bis zur Klärung der Frage voranzutreiben, ob die beobachtete Förderung der Toxinproduktion durch Weinsäure spezifisch an das Weinsäureradikal gebunden ist.

Versuchsfrage: Wie verhalten sich Aktivität gegenüber *Ustilago zeae*, pH und Myzelproduktion, wenn in der Fries II-Nährlösung das Ammoniumtartrat durch Ammoniumcitrat ersetzt wird?

Der Agar ergibt in der mit Ammoniumcitrat angesetzten Serie dieselbe Trübung wie in unveränderter FRIES II-Nährlösung. Am Wachstumsbild des Pilzes sind Unterschiede nicht zu erkennen. Das Myzeltrockengewicht nach 4 Tagen beträgt im Durchschnitt von 5 Versuchen 119 mg/Kolben auf FRIES II mit Ammoniumtartrat und 121 mg/Kolben auf FRIES II mit Ammoniumcitrat.

Die Ergebnisse der antifungischen Teste und der pH-Messungen sind in Abb. 8 zusammengestellt.

Die Kurve der antifungischen Aktivität bei Kultur auf unveränderter FRIES II-Nährlösung erreicht den Gipfelpunkt erwartungsgemäß nach 4 Tagen. Nach 6 Tagen sind die Kulturfiltrate inaktiv. Die entsprechende Kurve von „FRIES II mit Citrat" zeigt dagegen kein so scharf ausgeprägtes Maximum. Der Höchstwert der antifungischen Aktivität beträgt bei Verwendung dieses Mediums etwa 100 $E_{U.z.}$ gegenüber etwa 220 $E_{U.z.}$ auf der tartrathaltigen Nährlösung. Nach dem Überschreiten des Maximums sinken die Toxizitätswerte in der Serie „FRIES II mit Citrat" nur relativ langsam ab. Es ist interessant, daß die grünliche Verfärbung der Kulturfiltrate, wie sie auf S. 11 für FRIES II beschrieben wurde, ebenfalls verzögert nach Gelbbraun umschlägt.

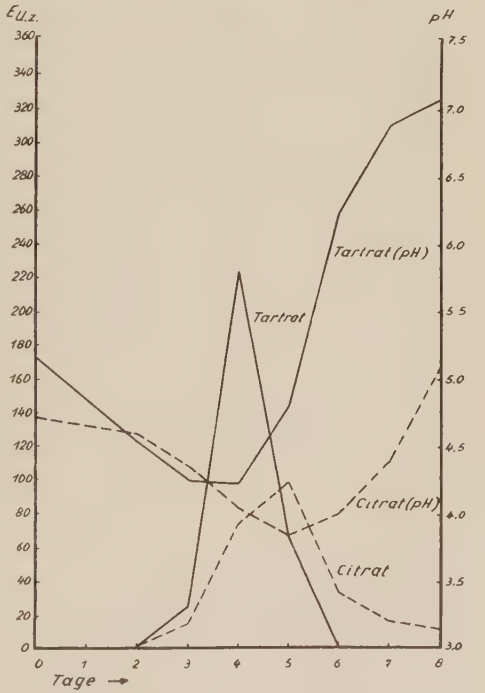


Abb. 8. Aktivität gegenüber *Ustilago zeae* (Ordinate links) und pH-Verlauf (Ordinate rechts) bei Kultur auf FRIES II mit Ammoniumtartrat und FRIES II mit Ammoniumcitrat. (Abszisse: Inkubationszeit). Die den Kurven zugrunde liegenden Zahlen sind Durchschnittswerte aus fünf Versuchen

Die pH-Kurven der Ansätze „mit Citrat" und „mit Tartrat" unterscheiden sich zwar durch die zeitliche Lage des Minimums, doch zeigt sich im Prinzip in beiden Fällen dieselbe Tendenz.

Es ist somit festzustellen, daß die in Abschnitt 8 nachgewiesene Förderung der Toxinproduktion nicht spezifisch an die Gegenwart des Tartrat-Ions gebunden ist. Ein Ersatz durch Ammoniumcitrat ist möglich. Die mit einer solchen Nährlösung erreichte maximale Toxizität beträgt allerdings nur knapp die Hälfte des Wertes, der vergleichsweise bei Kultur auf tartrathaltiger FRIES II-Nährlösung erhalten wird.

4. KAPITEL

Oberflächenspannung der Kulturfiltrate

§ 1. Orientierende Versuche

Bei der Reinigung von Versuchskolben, die noch Reste von Pilzmyzel und Nährlösung enthielten, wurde gelegentlich Schaumbildung beobachtet und daraus auf die Gegenwart eines oberflächenaktiven Prinzips geschlossen. Stalagmometrische Messungen an Kulturfiltraten (FRIES II + 1 ‰ Agar) zeigten, daß deren Oberflächenspannung gegen Luft zur Zeit der höchsten antifungischen Aktivität in der Tat um ca. 12—14 dyn/cm geringer ist als die reiner Nährlösung.

§ 2. Literatur

In neuerer Zeit hat man sich häufiger mit der phytotoxischen Wirksamkeit synthetischer oberflächenaktiver Stoffe beschäftigt. HODGSON, PETERSON und RIKER (1949) experimentierten mit Polyäthylenglykolen („Carbowax") und stellten fest, daß diese bis zum Molekulargewicht 9000 als pathogene Agentien um so wirksamer werden, je größer das Molekül ist. GÄUMANN, NAEF-ROTH, REUSSER und AMMANN (1952) konnten in zellphysiologischen Untersuchungen keine Veränderung der osmotischen Eigenschaften der Protoplasten von Tomatenblättern unter der Einwirkung der für die Experimente verwandten Polyäthylenglykole nachweisen. Da die Dosis minima bei „Carbowax 4000" mit 1000 mg je kg Lebendgewicht etwa in der Größenordnung des entsprechenden Wertes von Inulin liegt (gegenüber einer Dosis minima von 15 mg beim Eisen-Lycomarasmin oder nur 0,22 mg bei der Alternariasäure), nehmen die Autoren an, daß der mit „Carbowaxen" hervorgerufene Welkeeffekt durch eine mechanische Verstopfung der submikroskopischen Leitungsbahnen, also physikalisch induziert wird. Demgegenüber wurde bei einer anderen Gruppe synthetischer oberflächenaktiver Substanzen, den Atlas Tweens (Polyoxyalkylenderivate von Hexitanhydriden, deren Hydroxylgruppen teilweise mit Fettsäuren verestert sind), eine starke pathologische Veränderung der osmotischen Eigenschaften der Protoplasten nachgewiesen (GÄUMANN, NAEF-ROTH, REUSSER und AMMANN, l. c.). Die Dosis minima von Tween 80 kommt mit 250 mg/kg Lebendgewicht dem Bereich echter Welketoxine nahe.

Von besonderem Interesse sind Versuche von FISHER (1948), die auf die Möglichkeit eines Synergismus zwischen oberflächenaktiven und antibiotisch wirksamen Substanzen hinweisen. Dieser Autor konnte zeigen, daß bei einer Zugabe von 0,05 % Tween 80 zum Nährmedium die Wirksamkeit von Streptomycin gegenüber Tuberkelbazillen auf das 1000fache erhöht wird. Ein Zusatz von 2% Tween steigerte die Streptomycinwirkung nur auf den 10fachen Wert der Kontrolle.

Die Gegenwart eines biogenen oberflächenaktiven Prinzips in toxisch wirksamen Kulturfiltraten von *Botrytis cinerea* könnte somit biologische Bedeutung haben. Es ergeben sich folgende Vorstellungsmöglichkeiten:

1. Das antifungisch wirksame und das oberflächenaktive Prinzip sind identisch.
2. Das oberflächenaktive Prinzip wirkt selbständig als pathogenes Agens, ohne durch den *Ustilago*-Test erfaßt zu werden.
3. Die Toxizität der Kulturfiltrate beruht auf dem Zusammenspiel zweier oder mehrerer, stofflich verschiedener Prinzipien, von denen eines durch seine Oberflächenaktivität wirksam wird.
4. Das oberflächenaktive Prinzip spielt für die Pathogenität des Pilzes keine Rolle.

§ 3. Meßmethodik

Die Messung der Oberflächenspannung erfolgte mit einem TRAUBE-Stalagmometer entsprechend der von HALLER (1935) angegebenen Methodik. In drei Parallelversuchen wird das Gewicht von jeweils 20 Tropfen bestimmt und daraus das Mittel (m) errechnet. Unter Berücksichtigung des Radius der Abtropffläche (r) erfolgt die Bestimmung der Oberflächenspannung (σ) nach der Formel

$$\sigma = A \times m/r$$

Der Faktor A ist eine Funktion des Tropfenvolumens v und des Radius r der Abtropffläche und kann ausgehend von dem Wert $\sqrt[3]{v/r}$ in einer bei HALLER (l. c.) gegebenen Tabelle nachgeschlagen werden. Das Tropfenvolumen v ergibt sich aus dem Quotienten m/d (m = Tropfengewicht, d = spezifisches Gewicht der Lösung).

Bei Kontrollwägungen mit Wasser, reiner FRIES II-Nährlösung und Kulturfiltraten wurden Werte erhalten, die innerhalb der Fehlergrenze um d = 1 schwankten, so daß bei der Ermittlung von A an Stelle von $\sqrt[3]{v/r}$ unbedenklich der Wert $\sqrt[3]{m/r}$ zugrunde gelegt werden durfte. Die Rechenarbeit wurde dadurch vereinfacht.

Die Oberflächenspannung ist temperaturabhängig. Da der Faktor Temperatur in der oben angegebenen Berechnungsweise nicht enthalten ist, kommt es darauf an, ihn konstant zu halten. Der Konvention entsprechend erfolgte die Messung bei einer Lufttemperatur von 20° C (± 1,5° C). Um den Temperaturfehler soweit wie möglich auszuschalten, wurden die Meßergebnisse auf die jeweils mitbestimmte Oberflächenspannung reinen Wassers (A. bidest. über JENAer Glas) bezogen. Die graphische Darstellung (z. B. Abb. 9) kennzeichnet die Differenz zur Oberflächenspannung des Wassers. Die Werte werden als positiv aufgefaßt, wenn die Oberflächenspannung der Meßlösung geringer ist als die von Wasser (Herabsetzung der Oberflächenspannung durch oberflächenaktive Stoffe) und als negativ, wenn sie größer ist. Die Bezugnahme auf die jeweilige Oberflächenspannung von A. bidest. schließt einen Temperaturfehler allerdings nicht völlig aus, da die Temperaturabhängigkeit der Oberflächenspannung des getesteten Prinzips und die der Oberflächenspannung von Wasser nicht gleich zu sein brauchen; doch dürfte der dadurch entstehende Fehler angesichts der nur geringen Temperaturabweichungen kaum eine Rolle spielen.

§ 4. Oberflächenspannung, Wachstum und antifungische Aktivität

Das Experiment hatte naturgemäß bei der Frage anzusetzen, ob das antifungisch wirksame und das oberflächenaktive Prinzip identisch sind. Dabei sollte gleichzeitig festgestellt werden, wann im Verlauf einer Kultur die Oberflächenspannung der Filtrate die größte Differenz zu der reiner Nährlösung zeigt. Weiterhin war zu prüfen, welche Beziehung zwischen der Veränderung der Oberflächenspannung und dem Wachstum des Pilzes besteht.

Versuchsfrage: Wie verhalten sich Oberflächenspannung, Aktivität gegenüber *Ustilago zeae* und Myzelproduktion im Verlauf einer Kultur auf FRIES II + 1 ‰ Agar?

Die Veränderung der Oberflächenspannung in Abhängigkeit von der Inkubationszeit und die Beziehung zur antifungischen Aktivität sind aus Abbildung 9 ersichtlich.

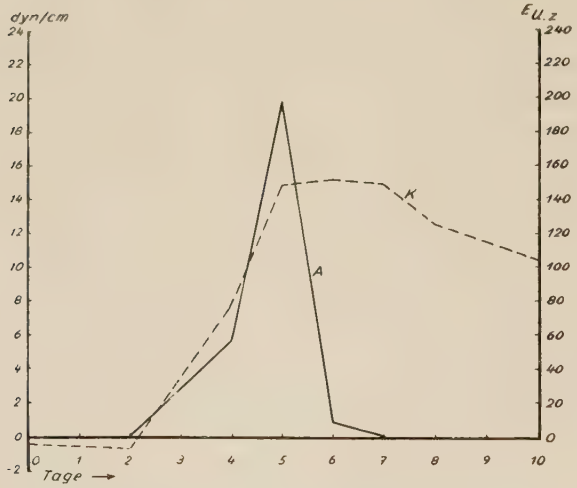


Abb. 9. Oberflächenspannung (Ordinate links, Kurve K) und Aktivität gegenüber *Ustilago zeae* (Ordinate rechts, Kurve A) bei Kultur auf FRIES II-Nährlösung + 1 ‰ Agar (Abszisse: Inkubationszeit). Oberflächenspannung (K) dargestellt als Differenz zur Oberflächenspannung reinen Wassers in dyn/cm. Die positiven Werte kennzeichnen eine Herabsetzung der Oberflächenspannung

Der Höchstwert der antifungischen Aktivität wird in dem der Abb. 9 zugrunde liegenden Versuch erst nach 5 Tagen erreicht. Das erklärt sich aus dem Zeitpunkt der Versuchsdurchführung. Die im folgenden referierten Experimente wurden nämlich im Anschluß an die im 3. Kapitel, § 3 beschriebenen Versuche durchgeführt, d. h. es kam noch nicht der später benutzte KOBE I-Agar zur Verwendung, bei dessen Zusatz die maximale Toxizität bereits nach vier Tagen erreicht wird (s. oben, S. 13).

Die Kurve K in Abb. 9 nimmt ihren Ausgang von negativen Werten; denn die Oberflächenspannung der reinen Nährlösung ist um etwa 0,5 dyn/cm höher als die reinen Wassers. Mit zunehmender Myzelentwicklung wird die Oberflächenspannung jedoch stark herabgesetzt, die Kurve K steigt also an. Nach 6 Tagen ist der Gipfelpunkt erreicht. Die Oberflächenspannung ist zu diesem Zeitpunkt um 15,2 dyn/cm geringer als die reinen Wassers und um ca. 15,7 dyn/cm geringer als die reiner FRIES II-Nährlösung. Dann fällt die Kurve langsam wieder ab. Nach 10 Tagen beträgt die Differenz zur Oberflächenspannung

des Wassers aber immer noch 10,5 dyn/cm. Für die Entscheidung der Frage, ob das antifungisch wirksame und das oberflächenaktive Prinzip identisch sind, ist insbesondere der Kurvenverlauf vom 5. zum 6. Tage der Kultur wichtig. Innerhalb dieses Zeitraumes sinken die Werte der *Ustilago*-Teste von rund 200 $E_{U.z.}$ auf rund 10$E_{U.z.}$ ab. Demgegenüber zeigt die Kurve der Oberflächenspannung in diesem Zeitabschnitt noch ansteigende Tendenz, die in dem in Abb. 9 dargestellten Beispiel mit 0,4 dyn/cm/24 Stdn. relativ schwach ist; denn im Durchschnitt von 8 Versuchen ergibt sich vom 5. zum 6. Tag ein Anstieg um 2,1 dyn/cm (vgl. auch Abb. 11). Nach 7 Tagen weist die Kurve der Oberflächenspannung den Wert 14,8 dyn/cm aus, also nur 0,4 dyn/cm weniger als im Gipfelpunkt. Gegenüber *Ustilago zeae* dagegen sind die Kulturfiltrate bereits inaktiv.

Die Deutung dieser Ergebnisse ist mit einer gewissen Unsicherheit belastet; denn es ist nicht erwiesen, daß die Oberflächenspannung, die allein der Messung zugänglich ist, zur Konzentration der oberflächenaktiven Stoffe in linearer Beziehung steht. Im vorliegenden Falle erscheint jedoch auch bei voller Berücksichtigung dieses Vorbehaltes mit hoher Wahrscheinlichkeit die Schlußfolgerung gerechtfertigt, daß die antifungische Aktivität und die Veränderung der Oberflächenspannung der Kulturfiltrate nicht auf ein und dieselbe stoffliche Grundlage zurückzuführen sind.

Der Zusammenhang zwischen Oberflächenspannung und Pilzwachstum ist in Abb. 10 dargestellt, und zwar wurde jeweils dem Myzeltrockengewichtszuwachs der Wert gegenübergestellt, um den in der entsprechenden Zeiteinheit die Oberflächenspannung herabgesetzt wird.

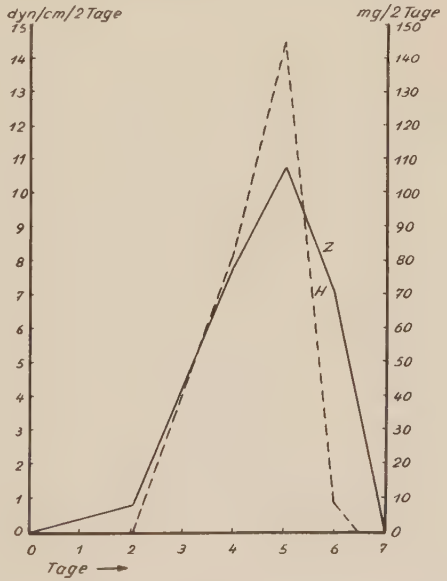


Abb. 10. Herabsetzung der Oberflächenspannung/2 Tage. (Ordinate links, Kurve H) und Myzeltrockengewichtszuwachs/2 Tage. (Ordinate rechts, Kurve Z). (Abszisse: Inkubationszeit)

Abb. 10 läßt erkennen, daß die Herabsetzung der Oberflächenspannung/Zeiteinheit um so stärker ist, je größer die Myzelzuwachsraten sind. Beide Kurven zeigen in allen bisherigen Versuchen stets dieselbe Tendenz, auch wenn durch Steigerung der Impfdichte das Maximum der Myzelzuwachsraten zeitlich verschoben wird (vgl. dazu Tabelle 1 und S. 15). Trotz der oben genannten Bedenken darf es somit als sehr wahrscheinlich gelten, daß das oberflächenaktive Prinzip mit dem Wachstum des Pilzes in Zusammenhang steht.

Es könnte der Einwand erhoben werden, das oberflächenaktive Prinzip entstamme dem Agar und werde daraus durch lytische Einwirkung des Pilzes frei gemacht. Das ist nicht der Fall; denn auch bei Kultur auf FRIES II o h n e Agarzusatz wird die Oberflächenspannung der Filtrate verringert. Die durchschnittliche maximale Differenz zur Oberflächenspannung reinen Wassers beträgt ca. 7 dyn/cm. Die Beziehungen zwischen Myzelzuwachs und der Herabsetzung der Oberflächenspannung/Zeiteinheit entsprechen auch bei Kultur auf FRIES II ohne Agar ganz den in Abb. 10 zum Ausdruck kommenden Verhältnissen.

5. KAPITEL

Toxizität gegenüber höheren Pflanzen in Beziehung zu antifungischer Aktivität und Oberflächenspannung

Die Einführung des *Ustilago*-Testes basiert auf der Annahme, das antifungische und das gegenüber höheren Pflanzen toxisch wirksame Prinzip seien identisch. Im folgenden soll geprüft werden, ob das wirklich der Fall ist. Gleichzeitig ist zu untersuchen, ob das stalagmometrisch nachgewiesene Prinzip, das gegenüber *Ustilago* sehr wahrscheinlich inaktiv ist, phytotoxische Wirksamkeit besitzt.

Aus der Fragestellung ergibt sich die Notwendigkeit, eine höhere Pflanze als Testobjekt heranzuziehen. Es wurde *Helxine soleirolii* REQ. gewählt, deren Empfindlichkeit gegenüber antifungisch aktiven Kulturfiltraten von *Botrytis cinerea* aus den im 1. Kap. beschriebenen Versuchen bereits bekannt war (vergl. S. 5). Nach der Aufnahme von Toxinlösung läßt diese Pflanze anfänglich punktförmige Einzelnekrosen an den Blatträndern erkennen, die sich vergrößern und ineinander übergehen, sodaß schließlich die ganze Spreite nekrotisch welk sein kann. Der Stengel zeigt keine Nekrosen, erscheint aber wasserdurchtränkt und wird nach Aufnahme hoher Toxindosen völlig schlaff.

Für die Zuverlässigkeit der Teste ist wichtig, daß die Pflanzen unter gleichbleibenden Bedingungen heranwachsen. Als günstig erwies sich die Anzucht im Keller bei ca. 24° C und einer täglich 14stündigen Belichtung durch Leuchtstofflampen. Da von einer gut entwickelten *Helxine*-Pflanze gleichzeitig bis zu 60 Sprosse geschnitten werden können, ist der Platzbedarf nur gering.

Die Applikation der Kulturfiltrate erfolgte auf dem Wege der Vakuuminfiltration. Somit wurde die Dosierung der Toxinlösung auf die Oberfläche der *Helxine*-Sprosse bezogen. Nach der Behandlung erfolgte die Aufstellung der Testpflanzen in Glasröhrchen mit Leitungswasser. Die Versuche wurden bei Dauerbeleuchtung (Glühlampe) in einem Kellerraum mit einer Lufttemperatur von etwa 24° C durchgeführt.

Von dem zu testenden Kulturfiltrat wurde folgende Verdünnungsreihe hergestellt: $^1/_4$, $^1/_6$, $^1/_8$, $^1/_{12}$, $^1/_{16}$, $^1/_{24}$, $^1/_{32}$, $^1/_{48}$, $^1/_{64}$. Als Kontrolle diente FRIES II-Nährlösung in der Konzentration $^1/_4$. Bei der Bonitierung (24 Stdn. nach der Infiltration) wurde die letzte Verdünnungsstufe ermittelt, bei der noch Schäden zu erkennen waren. Der reziproke Wert dieser Verdünnung wurde als Maß für die Toxizität einer Lösung angesehen und in Einheiten $_{Helxine}$ (EH.) aus-

gedrückt. Diese Methode ist weniger genau als der Sporenkeimungstest; doch reicht sie für die Bearbeitung der vorliegenden Fragestellung aus, da während einer Pilzkultur die Unterschiede in der antifungischen Aktivität der Kulturfiltrate erheblich sind.

Versuchsfrage: Wie verhalten sich Aktivität gegenüber *Ustilago zeae*, Toxizität gegenüber *Helxine* und Oberflächenspannung im Verlauf einer Kultur auf Fries II-Nährlösung + 1 ‰ Agar?

Die Ergebnisse sind in Abb. 11 dargestellt.

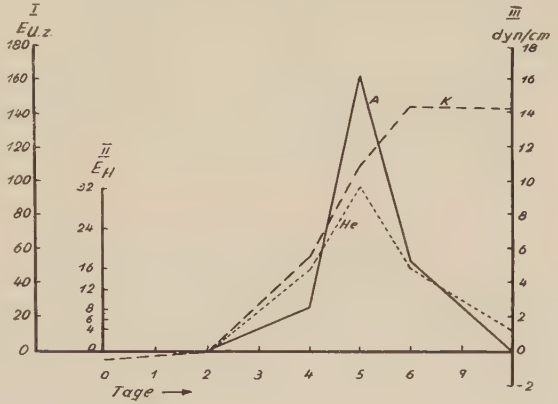


Abb. 11. Aktivität gegenüber *Ustilago zeae* (Ordinate I, Kurve A), Toxizität gegenüber *Helxine soleirolii* (Ordinate II, Kurve He) und Oberflächenspannung (Ordinate III, Kurve K) bei Kultur auf Fries II-Nährlösung + 1 ‰ Agar (Abszisse: Inkubationszeit). Die positiven Werte der Kurve K kennzeichnen eine Herabsetzung der Oberflächenspannung

Das Maximum der antifungischen Aktivität (A) und das der Toxizität gegenüber *Helxine* (He) fallen zeitlich zusammen. Die Tendenz beider Kurven ist im Verlauf einer Pilzkultur stets gleich. Es ist deshalb als sehr wahrscheinlich anzusehen, daß der antifungisch getestete mit einem gegenüber höheren Pflanzen toxisch wirksamen Stoff identisch ist.

Die Kurve der Oberflächenspannung (K) und die der Toxizität gegenüber *Helxine* (He) verlaufen anfänglich etwa gleichsinnig. Vom 5. Tage der Kultur an ergibt sich jedoch eine völlig verschiedene Tendenz: Die Werte der phytotoxischen Aktivität fallen steil ab, während die Kurve der Oberflächenspannung zunächst noch ansteigt und dann vom 6. bis zum 8.Tage der Kultur etwa gleichbleibende Werte ausweist. Das oberflächenaktive Prinzip dürfte an der Toxizität gegenüber *Helxine* als selbständig wirkendes pathogenes Agens also kaum wesentlichen Anteil haben. Allerdings ist es notwendig, auf die Testergebnisse vom achten Tage der Kultur hinzuweisen.

Das Filtrat ist zu diesem Zeitpunkt gegenüber *Ustilago zeae* bereits inaktiv; bei *Helxine* werden jedoch in der Konzentrationsstufe $^1/_4$ vereinzelt Schäden festgestellt. Diese zahlenmäßig nur geringe Diskrepanz ist deshalb bemerkenswert, weil die Empfindlichkeit der *Helxine* in den vorhergehenden Testen des Versuches geringer ist als die von *Ustilago*. Es könnte deshalb vermutet werden, daß an der Toxizität gegenüber *Helxine* außer dem antifungischen Stoff noch ein weiterer Faktor — z. B. das oberflächenaktive Prinzip — beteiligt sei. Diese Annahme erscheint jedoch vorläufig nicht not-

wendig, weil die zur Diskussion stehende Erscheinung nur in einzelnen Wiederholungen des Versuches auftrat und zudem noch eine andere Erklärungsmöglichkeit gegeben ist: Der antifungische Test und der *Helxine*-Test wurden etwa gleichzeitig angesetzt. In Tastversuchen zeigte sich, daß die Keimung der *Ustilago*sporen erst nach 6—8 Stdn. beginnt. Demgegenüber sind bei *Helxine* Schädigungen der Blätter im allgemeinen schon nach 2—3, häufig schon nach 1 Std. sichtbar. Die entscheidende Toxineinwirkung erfolgt also wohl bei *Helxine* zu einem früheren Zeitpunkt als bei *Ustilago* . Da nach dem Verlauf der Kurve der antifungischen Aktivität zur Zeit des Toxizitätsabfalls einem kleinen Abstand auf der Abszisse erhebliche Unterschiede in der Aktivität entsprechen, wäre denkbar, daß das abweichende Verhalten von *Helxine* und *Ustilago* am 8. Tage der Kultur lediglich ein Zeiteffekt ist, der möglicherweise durch die höhere Inkubationstemperatur des Sporenkeimungstestes (27 ° C) noch verstärkt wird.

Diskussion

In Kulturfiltraten von *Botrytis cinerea* PERS. wurden toxische Stoffwechselprodukte nachgewiesen. Die Entwicklung des Pilzes und die Toxinproduktion werden durch den Zusatz von Agar wesentlich gefördert. RIPPEL (1936) bringt einen ähnlichen, bei *Aspergillus niger* v. TIEGH. beobachteten Agareffekt in Zusammenhang mit der Oberflächenspannung des Kulturmediums. Die Wachstumsformen unseres Pilzes auf synthetischer Nährlösung ohne Agar in ungeätzten Gefäßen (vgl. S. 5) lassen ebenfalls kaum eine andere Deutung zu. VIRTANEN (1936) findet bei stalagmometrischen Messungen von Nährlösung mit und ohne Agarzusatz keinen nennenswerten Unterschied. Dieser Befund wird durch die Ergebnisse eigener Versuche bestätigt (Abb. 9). Dazu ist festzustellen, daß stalagmometrisch lediglich die Oberflächenspannung der Nährlösung gegen Luft erfaßt wird. Wesentlich sind jedoch die der Messung z. Zt. noch nicht zugänglichen Grenzflächenspannungen der Nährlösung gegenüber der Konidie und gegenüber dem Keimmyzel. Die Ergebnisse der oben erwähnten stalagmometrischen Messungen sprechen also nicht gegen die von RIPPEL vertretene Auffassung, daß der Agareffekt über eine Veränderung der Grenzflächenspannung zustande kommt.

In diesem Zusammenhang sind kürzlich veröffentlichte Versuche mit *Spirogyra* interessant (v. WEIHE, 1952): Die Bildung der Rhizoiden bei *Sp. fluviatilis* HILSE wird normalerweise durch Kontaktreiz induziert. In substratlosen Flüssigkeitskulturen bleiben die freischwimmenden Algenfäden also Rhizoiden-frei. Wird der Nährlösung Agar zugesetzt, so bilden die Initialzellen Rhizoidschläuche aus, ohne mit einem festen Substrat in Berührung gekommen zu sein. Agarzusatz und Kontakt wirken also entwicklungsphysiologisch gleich. In beiden Fällen wird nach v. WEIHE ein für die Initialzelle angenommenes Grenzflächenpotential verändert. Wenn man sich vergegenwärtigt, daß auch im Keimungsvorgang der *Botrytis*-Konidie in vivo der Kontaktreiz eine Rolle spielt (GÄUMANN, 1951) und daß das Wachstum des Pilzes nicht in reinem Wasser, sondern in einem kolloidalen System erfolgt, so bieten

sich der gedanklichen Spekulation im Anschluß an die Ergebnisse v. Weihes eine Reihe von Ansatzmöglichkeiten; doch ist eine Übertragung der an *Spirogyra* gewonnenen Vorstellungen auf *Botrytis cinerea* ohne experimentelle Stütze naturgemäß nicht erlaubt.

Es könnte vermutet werden, der Agareffekt sei nicht auf eine Veränderung der physikochemischen Bedingungen zurückzuführen, sondern auf im Agar enthaltene Wirkstoffe. Mit dieser Frage hat sich bereits Rippel (l. c.) auseinandergesetzt. Er stellte fest, daß Agar, der nach üblichen Methoden der Wuchsstoffextraktion vorbehandelt wurde, genau so wirkte wie unbehandeltes Material (vgl. auch S. 13). Definitive Beweiskraft hat dieser Befund allerdings nicht. Deshalb ist wesentlich, daß Stapp und Wetter (1953) die Entwicklung von *Aspergillus niger* in derselben Weise wie durch Agar beeinflussen konnten, wenn sie der Nährlösung Polyvinylalkohol zusetzten, ein synthetisches Produkt, das mit größter Wahrscheinlichkeit als wirkstoffrei angesehen werden darf.

Da durch den Zusatz von Agar in bestimmten Konzentrationen die Viskosität der Nährlösung erhöht wird, ist eine Einflußnahme dieses Faktors auf das Wachstum nicht ausgeschlossen. Hierzu ist allerdings festzustellen, daß v. Weihe in bisher unveröffentlichten Versuchen mit *Lepidium sativum* L. und *Bryopsis muscosa* Lam. starke Wachstumsförderungen schon als Folge eines Agarzusatzes von 0,25 ‰ erhielt, obwohl die Viskosität der Lösungen praktisch unverändert blieb. Wesentliche Viskositätserhöhungen ergaben sich erst bei höherem Agargehalt. Die physiologische Wirksamkeit des Agars kann in den Untersuchungen v. Weihes somit nicht auf die Veränderung der Viskosität zurückgeführt werden.

Die beobachtete Beziehung zwischen Wachstum und Toxinproduktion interessiert in erster Linie im Hinblick auf die Frage, ob das toxische Prinzip mit dem aktiven Stoffwechsel des Pilzes zusammenhängt, oder ob es sich um ein postmortal entstehendes Myzelzersetzungsprodukt handelt. Dazu läßt sich feststellen, daß im Verlauf einer Kultur die Toxinproduktion auf die Periode starken Myzelwachstums beschränkt ist: In der Regel fallen das Maximum des Myzelzuwachses und das der Toxizität zeitlich zusammen. Wenn die Myzelzuwachsraten geringer werden, sinkt die Kurve der Toxizität steil ab, offensichtlich läßt die Toxinproduktion nach. Das toxische Prinzip darf somit als Produkt des aktiven Pilzstoffwechsels angesehen werden.

Bei Steigerung der Myzelproduktion nimmt die maximale Toxizität nicht geradlinig zu. Sie folgt dem Wachstum nur bis zu einem bestimmten Wert. Geht die Myzelproduktion darüber hinaus, — z. B. infolge eines besonders reichlichen Nährstoffangebotes (vgl. S. 20) oder nach Einstellung bestimmter physikochemischer Bedingungen (Abb. 4) — so wird die Toxizität wieder geringer. Dafür gibt es zwei Erklärungsmöglichkeiten: Entweder werden Abbauvorgänge gefördert, oder die Fähigkeit zur Toxinproduktion wird beeinträchtigt, wenn der Stoffwechsel luxurierende Formen annimmt. Welche dieser beiden Vorstellungen richtig ist, kann z. Zt. noch nicht entschieden werden.

Auf allen geprüften Nährmedien werden im Verlauf eines Versuches starke pH-Verschiebungen beobachtet. Bei Kultur von *Botrytis cinerea* auf FRIES II sinken die pH-Werte zunächst ab und steigen dann steil wieder an. Daran ändert sich kaum etwas, wenn das Ammoniumtartrat durch Ammoniumcitrat ersetzt wird (Abb. 8). Erfolgt der Ansatz dagegen mit Ammoniumsulfat, so hat die Kurve der pH-Werte, wie auch auf RICHARD, CZAPEK und RAULIN, bis zum Schluß des Versuches stetig fallende Tendenz (Tab. 3 und 4). Die für FRIES II als typisch beschriebene Kurvenform des pH-Verlaufes ist also, soweit es sich nach den bisherigen Versuchen beurteilen läßt, davon abhängig, ob in der Nährlösung das NH_4 ganz oder doch überwiegend als Salz einer organischen Säure vorliegt. — Mit dem pH-Verlauf ist scheinbar ein bestimmtes Wachstumsverhalten des Pilzes gekoppelt. Darauf ist im einzelnen auf S. 19 u. 21 bereits hingewiesen worden.

Bei Kultur auf FRIES II fallen das Maximum der Toxizität und das Minimum des pH zeitlich sehr häufig zusammen; doch wurde auf S. 12 bereits festgestellt, daß diese Beziehung nicht absolut fest ist. Ein entscheidender stofflicher Zusammenhang besteht somit nicht.

Angesichts des starken pH-Anstiegs auf FRIES II gegen Schluß der Kultur und des gleichzeitigen Abfalls der Toxizität (Abb. 2) könnte die Frage aufgeworfen werden, ob der Toxinabbau durch steigende pH-Werte gefördert werde. Das wird durch die Ergebnisse der bisher vorliegenden Versuche nicht ausgeschlossen. Es ist allerdings darauf hinzuweisen, daß auch bei Kultur auf RICHARD, CZAPEK und RAULIN die Toxizitätswerte auf Null absinken, obwohl die Kulturfiltrate weiterhin sauer reagieren (Tab. 2 und 3). Die Möglichkeit eines pH-Einflusses auf den Wirkungsgrad des toxischen Prinzips wird beim antifungischen Test durch eine ausreichende Pufferung der Testlösungen ausgeschieden (vgl. S. 7).

Über die Bedeutung des oberflächenaktiven Prinzips kann Abschließendes noch nicht ausgesagt werden. Der antifungische Stoff und das die Oberflächenspannung herabsetzende System sind mit hoher Wahrscheinlichkeit als nicht identisch anzusehen (Abb. 9). Es konnte auch nicht nachgewiesen werden, daß das oberflächenaktive Prinzip als selbständig wirkendes Agens an der Toxizität der Kulturfiltrate gegenüber *Ustilago* und *Helxine* beteiligt ist (Abb. 9 und 11). Die Frage, ob die Veränderung der Oberflächenspannung in synergistischem Sinne die Toxizität mitbestimmt, bleibt zunächst offen, da im derzeitigen Stand der Untersuchungen die methodischen Voraussetzungen für eine stoffliche Trennung beider Prinzipien nicht gegeben sind.

Es ist zu erörtern, ob das nachgewiesene toxische Prinzip für die Pathogenität des Pilzes in vivo eine Rolle spielt. Um dieses Problem definitiv zu klären, wäre es notwendig, das getestete Prinzip aus infizierten Pflanzen zu isolieren und die chemische Konstitution festzustellen. Diese müßte dann verglichen werden mit der Konstitution eines aus Kulturfiltraten gewonnenen Isolates, um sicher zu sein, daß tatsächlich ein Stoffwechselprodukt des Erregers vorliegt. Dieser Weg ist unseres Wissens noch bei keinem der bisher bekannten Welkestoffe beschritten worden. Er erfordert einen erheblichen Aufwand. Man wird deshalb zunächst versuchen, das Problem von der biolo-

gischen Seite her anzugehen. Entsprechende Untersuchungen waren im Rahmen der vorliegenden Arbeit noch nicht möglich; doch liegen eine Reihe von Indizien vor, die übereinstimmend für eine biologische Bedeutung des mit *Ustilago zeae* nachgewiesenen toxischen Prinzips sprechen. Sie sollen im folgenden zusammengestellt werden:

1. Im Verlauf einer Kultur ist die Toxinproduktion auf die Zeit starken Myzelwachstums beschränkt.
2. Die Toxinproduktion ist auf unveränderter Fries II-Nährlösung gering. Sie wird durch Einstellung bestimmter physikochemischer Bedingungen (Agarzusatz), die als Angleichung an die in der Wirtszelle gegebenen Verhältnisse gedeutet werden könnten, stark gefördert.
3. Bestimmte organische Säuren, die in höheren Pflanzen allgemein vorkommen, sind bei der Gewinnung stark toxischer Kulturfiltrate wichtig.
4. Im Anschluß an die Ergebnisse von Sauthoff (1952) stellte Bazzigher (1953) fest, daß gegenüber *Ustilago* aktives Kulturfiltrat im „Randenscheiben-Test" (*Beta vulgaris* var. *rubra*) (Gäumann, Jaag und Braun, 1947; Gäumann und v. Arx, 1947) wirksam ist. Daraus wurde geschlossen, daß die Semipermeabilität der Plasmagrenzschichten zerstört wird. Die Kurve der Aktivität gegenüber *Ustilago* im Verlauf einer Kultur und die der Ergebnisse des Randenscheiben-Testes stimmen bei Bazzigher (l. c.) gut überein, so daß der Annahme nichts entgegensteht, beide Größen seien Äußerungen ein und desselben Stoffes. Leider ist von hier aus die Querverbindung zu den Resultaten der eigenen Versuche nicht eindeutig herzustellen, da die Toxizitätskurven Bazzighers keinen Toxin a b b a u erkennen lassen. Diese Diskrepanz kann vorläufig nicht erklärt werden, da Bazzigher unter anderen Bedingungen arbeitete als wir. Es ist deshalb nicht völlig sicher, ob in seinen Untersuchungen dasselbe Toxin vorlag wie in den eigenen. Macht man jedoch die wohl berechtigte Annahme, daß das der Fall sei, so ergibt sich über die Arbeit Bazzighers eine Beziehung zu den Ergebnissen von Thatcher (l. c.), der in vivo unter der Einwirkung von *Botrytis cinerea* Veränderungen der Permeabilität feststellte.
5. Bazzigher (l. c.) teilt mit, daß das gegenüber *Ustilago zeae* aktive Toxin durch Alkohol gefällt werden kann. — Ribereau-Gayon, Peynaud und Lafourcade (1952 a und b) stellten fest, daß *Botrytis cinerea* auf Traubensaft ein Antibioticum produziert, das die Entwicklung von Saccharomyces stark hemmt. Die Autoren sind der Ansicht, daß das von ihnen nachgewiesene Toxin für die häufig mangelhafte Gärung des Saftes aus *Botrytis*-kranken Trauben verantwortlich sei. Die aktive Substanz konnte — wie auch in den Versuchen Bazzighers — mit Alkohol gefällt werden. Macht man wieder die Annahme, Bazzigher habe denselben Stoff getestet, der in den eigenen Versuchen vorlag, so sprechen die Ergebnisse von Ribereau-Gayon, Peynaud und Lafourcade ebenfalls dafür, daß das mit *Ustilago zeae* und *Helxine soleirolii* in vitro nachgewiesene toxische Prinzip von *Botrytis cinerea* auch in vivo produziert wird.

Zusammenfassung

1. In Kulturfiltraten von *Botrytis cinerea* PERS. wird ein toxisches Prinzip nachgewiesen, das u. a. gegenüber *Pisum sativum* L. und *Helxine soleirolii* REQ. wirksam ist.
2. Der quantitative Nachweis erfolgt im Sporenkeimungstest mit *Ustilago zeae* (BECKM.) UNG.. Es konnte gezeigt werden, daß das antifungische und das gegenüber höheren Pflanzen toxische Prinzip mit großer Wahrscheinlichkeit als identisch anzusehen sind.
3. Bei Kultur auf FRIES II + 100 γ/l Aneurin beträgt die maximale Toxizität ca. 7 Eu.z.. Wenn der Nährlösung 1 ‰ Agar zugesetzt wird, so werden bei gleichzeitiger Steigerung des Myzelwachstums Kulturfiltrate mit durchschnittlich 200 Eu.z. erhalten.
4. Das aktive Prinzip wird bereits im Verlauf der Kultur abgebaut oder inaktiviert.
5. Die Toxinproduktion ist während eines Versuches auf die Zeit starken Myzelwachstums beschränkt.
6. Für die Produktion stark toxischer Kulturfiltrate ist der Ammonium t a r t r a t - Gehalt der Nährlösung wichtig. Ein Ersatz durch Ammonium- c i t r a t ist bedingt möglich.
7. Durch stalagmometrische Messungen wird nachgewiesen, daß Stoffwechselprodukte von *Botrytis cinerea* die Oberflächenspannung der Kulturfiltrate herabsetzen. Die Differenz zur Oberflächenspannung reiner Nährlösung beträgt im Maximum ca. 15 dyn/cm.
8. Die Herabsetzung der Oberflächenspannung erfolgt in der Hauptsache zur Zeit starken Myzelwachstums.
9. Das antifungische und das die Oberflächenspannung verändernde Prinzip sind sehr wahrscheinlich nicht identisch.
10. Es konnte nicht nachgewiesen werden, daß das oberflächenaktive Prinzip als selbständig wirkendes Agens an der Toxizität der Kulturfiltrate beteiligt ist. Die Möglichkeit einer Mitwirkung (in synergistischem Sinne) bleibt bestehen.
11. Es wird die Frage diskutiert, ob das in vitro nachgewiesene toxische Prinzip mit der Toxigenität des Pilzes in vivo in Zusammenhang steht.

Herrn Prof. Dr. GÄUMANN und Herrn Prof. Dr. RUGE möchte ich für die Betreuung meiner Arbeit herzlich danken. Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft schulde ich Dank für eine Sachbeihilfe. Herrn Dr. v. WEIHE danke ich für seine Bereitschaft zur Diskussion von Problemen der Grenzflächenspannung. Herr Dr. KERN-Zürich war in freundlicher Weise mehrfach um die Beschaffung von Sporenmaterial bemüht. Ohne das Entgegenkommen von Herrn Prof. Dr. NICOLAISEN wäre der Abschluß der Arbeit kaum möglich gewesen.

Literaturverzeichnis

Ammann, A., 1951: Über die Bildung von Zellulase bei pathogenen Mikroorganismen. Phytopath. Z., **18**, 416—446.

Bazzigher, G., 1953: Über mutmaßlich induzierte Abwehrreaktionen bei *Phaseolus vulgaris* L. Phytopath. Z. **20**, 383—396.

Blumer, S. und Gondek, J., 1946: Über die Wirkung des Oxychinolins auf *Botrytis cinerea*. Ber. Schweiz. Bot. Ges., **56**, 467—499.

Blumer, S. und Kundert, J., 1950: Methoden der biologischen Laborprüfung von Kupferpräparaten. Phytopath. Z. **17**, 161—199.

Brown, W., 1915: Studies in the physiology of parasitism I. Action of *Botrytis cinerea*. Ann. Bot. **29**, 313—348.

Clauson-Kaas, N., Plattner, Pl. A. und Gäumann, E., 1944: Über ein welkeerzeugendes Stoffwechselprodukt von *Fusarium lycopersici* Sacc. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **54**, 523—528.

Finney, D. J., 1947: Probit Analysis. A statistical treatment of the sigmoid response curve. Cambridge, University Press. 1947.

Fisher, M. W., 1948: Sensitivity of tubercle bacilli to streptomycin. An in vitro study of some factors affecting results in various test media. Amer. Rev. Tbc. **57**, 58—62; zitiert nach Ber. Wiss. Biol. **65**, 357.

Gäumann, E., 1946: Pflanzliche Infektionslehre. 1. Auflage, Birkhäuser, Basel, 611 S.

—, 1951: Pflanzliche Infektionslehre. 2. Auflage, Birkhäuser, Basel, 681 S.

— und v. Arx, A., 1947: Antibiotica als pflanzliche Plasmagifte II. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **57**, 174—183.

— und Böhni, E., 1947: Über adaptive Enzyme bei parasitischen Pilzen I. Helv. Chim. Acta **30**, 24—38.

— und Jaag, O., 1950: Über das toxigene und das physikalisch induzierte Welken. Phytopath. Z. **16**, 226—256.

—, Jaag, O. und Braun, R., 1947: Antibiotica als pflanzliche Plasmagifte I. Experientia **3**, 70—71.

—, Naef-Roth, St. und Kobel, H., 1952: Über Fusarinsäure, ein zweites Welketoxin des Fusarium lycopersici Sacc. Phytopath. Z. **20**, 1—38.

—, Naef-Roth, St., Reusser, P. und Ammann, A., 1952: Über den Einfluß einiger Welketoxine und Antibiotica auf die osmotischen Eigenschaften pflanzlicher Zellen. Phytopath. Z. **19**, 160—220.

—, Stoll, Ch. und Kern, H., 1953: Über Vasinfuscarin, ein drittes Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc. Phytopath. Z. **20**, 345—347.

Gentile, A. C., 1951: A study of the toxin produced by an isolate of *Botrytis cinerea* from *Exochorda*. Physiol. Plant. **4**, 370—386.

Haller, W., 1935: Oberflächenspannung; in A. Kuhn: Kolloidchemisches Taschenbuch, Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig, 369 S.

Hess, H., 1949: Ein Beitrag zum Problem der induzierten Abwehrreaktionen. Phytopath. Z. **16**, 41—70.

Hodgson, R., Peterson, W. H. and Riker, A. J., 1949: The toxicity of polysaccharides and other large molecules to tomato cuttings. Phytopath., **39**, 47—62.

Kauko, Y. und Knappsberg, L., 1938: Zur Kenntnis der Anwendung der Chinhydronelektrode. Angew. Chemie, **51**, 65—66.

Kern, H., 1952: Über die Beziehungen zwischen dem Alkaloidgehalt verschiedener Tomatensorten und ihrer Widerstandsfähigkeit gegen das *Fusarium lycopersici* Sacc. Phytopath. Z. **19**, 351—382.

Kobel, F., 1951: Untersuchungen über toxische Stoffwechselprodukte von *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr. Phytopath. Z. **18**, 157—195.

Luz, G., 1934: Über den Stoffwechsel von *Fusarium lycopersici* und *Fusarium lini*. Phytopath. Z., 7, 585—638.

Ribereau-Gayon, J., Peynaud, E. und Lafourcade, S., 1952 a: Formation d'inhibiteurs et d'activateurs de la fermentation alcoolique par diverses moissures. C. R. Acad. Sci., **234**, 251.

—, —, —, 1952 b: Sur la formation des substances inhibitrices de la fermentation par *Botrytis cinerea*. C. R. Acad. Sci. **234**, 478—480.

Rippel, A., 1936: Über die Wirkung von geringen Mengen Agar auf das Wachstum und die Stickstoffbindung von *Azotobacter* und auf andere mikrobiologische Vorgänge. Arch. Mikrobiol. **7**, 210—234.

Sauthoff, W., 1952: Über Stoffwechselprodukte bei *Botrytis cinerea* Pers. Phytopath. Z. **19**, 483—484.

Stapp, C. und Wetter, C., 1953: Beiträge zum quantitativen mikrobiologischen Nachweis von Magnesium, Zink, Eisen, Molybdän und Kupfer im Boden. Landw. Forschg. **5**, 167—180.

Strugger, S., 1938: Fluoreszensmikroskopische Untersuchungen über die Speicherung und Wanderung des Fluoreszeinkaliums in pflanzlichen Geweben. Flora (Jena) **132**, 253—304.

Thatcher, F. S., 1939: Osmotic and permeability relations in the nutrition of fungs parasites. Amer. J. Bot. **26**, 449—458.

Virtanen, A. J., 1936: Bemerkungen zu der Arbeit von A. Rippel: „Über die Wirkung von geringen Mengen Agar auf Wachstum und Stickstoffbindung von Azotobacter und auf andere mikrobiologische Vorgänge". Archiv Mikrobiologie **7**, 488—489.

Weihe, K. v., 1952: Über die Rhizoidbildung und die Rhizoidzelle bei *Spirogyra*. Z. Bot. **40**, 231—249.

Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung (Erwin-Baur-Institut) Voldagsen

Untersuchungen über die Schorfresistenz von Birnen (III)

Stofflicher Hinweis auf die Grundlagen der Blattschorfresistenz

Von

E. Siebs

Mit 2 Abbildungen

Einleitung

Nachdem in vorangegangenen Untersuchungen (Siebs, 1951 und 1954) mehrere blatt- und fruchtschorffeste Birnensorten angegeben worden sind und eine Reihe hochgradig blattschorfresistenter Sämlinge von frei bestäubten Edel- und Mostsorten ausgelesen werden konnte, erhebt sich die Frage nach der Natur der Schorfresistenz schlechthin. Morphologisch haben sich keine eindeutig auf Schorfresistenz hinweisenden Merkmale an den Birnen ermitteln lassen, und auch anatomisch liegen keine zuverlässigen Anhaltspunkte dafür vor. Epidermiszellenmessungen der vom Birnschorf bevorzugten Blattunterseiten hatten zwar bei vier resistenten Sämlingen 13,0 bis 14,9 × 9,5 bis 10,4 μ, bei vier ziemlich anfälligen Sorten 16,13 bis 19,75 × 11,87 bis 12,38 μ betragen, also für resistente Birnen kleinere Zellflächen als für anfällige ergeben. Man wird aus dieser Erscheinung der zellflächenmäßig kleineren Pilzweide jedoch keineswegs ein allgemeingültiges und die Resistenz damit womöglich begründendes Merkmal zur Unterscheidung von Resistenz und Anfälligkeit herleiten dürfen. Mögliche Unterschiede in der Dicke der Kutikula zwischen den beiden Vergleichspartnern wurden nicht gefunden. Somit muß die Frage im stofflichen Gebiet zu klären versucht werden. Angesichts der die Resistenz steuernden, wahrscheinlich sehr komplexen Stoffwechselverhältnisse wäre für die Klärung der Nachweis von möglichst e i n e r, durch ihre An- oder Abwesenheit in den Blättern die Schorfresistenz weitgehend bestimmenden chemischen Verbindung gewiß am günstigsten. In Birnenblättern sind jedoch mindestens drei Resistenz bewirkende Körpergruppen denkbar: Arbu-

tin, Hydrochinon und Gerbstoffe. Ihres Arbutingehalts wegen werden diese Blätter auch pharmazeutisch als Infuse genutzt. Es fragt sich nun, ob und welche dieser drei Stoffwechselprodukte für die Schorfresistenz in Betracht kommen.

RUDLOFF (1935) hat in Extrakten aus Apfel- und Birnenblättern, in Wirkstoffversuchen und in mit Wirkstoff versetzten Nährlösungsversuchen verschiedener Konzentrationen festgestellt, daß *Venturia inaequalis* (Apfelschorf) gegenüber *V. pirina* (Birnschorf) für Hydrochinon und Arbutin ungleich empfindlicher ist und in verhältnismäßig schwachen Konzentrationen sicher getötet wird, wobei Hydrochinon in geringeren Konzentrationen wirksam war als Arbutin. Da weder das Glukosid noch sein Aglukon in Apfelblättern bekannt sind, glaubt RUDLOFF, in der Anwesenheit dieser beiden Verbindungen in den Birnenblättern einen wichtigen Grund u. a. für die Unangreifbarkeit der Birne für den Apfelschorf zu sehen.

So wie sich die apfelschorffesten Birnenblätter durch Qualität ihres Inhalts von den Apfelblättern unterscheiden, mögen die birnschorffesten Birnenblätter dies nun vielleicht nach Quantität ihres Inhalts von den schorfanfälligen Birnenblättern tun. Dies war hier zu prüfen. — Auch Gerbsäure von bestimmter Konzentration hält RUDLOFF, in Rückschluß aus Versuchsergebnissen über den Einfluß von reinem Tannin auf die Entwicklung von *V. inaequalis*, als fungostatisch bis fungizid wirksam. RUDLOFF hat jedoch seine ganzen stofflichen Befunde durch chemische Untersuchung in den jeweiligen Blättern selber nicht gesichert. Beides sollte hier für *V. pirina* gleichfalls geprüft werden.

Versuche

Nachdem in sechs Vorversuchen festgestellt worden war, daß der Pilz sich auf unbehandelten Blattextrakten von schorfresistenten und stark anfälligen Birnen im wesentlichen tatsächlich gleichsinnig verhält wie auf den Blättern in der Natur, wurden die Blattextrakte dieser Herkünfte auf Gerbstoffe, Arbutin und Hydrochinon mikrochemisch geprüft. — Die qualitativen Nachweisproben mit vier schorfresistenten Nachkommenschaften frei bestäubter Sorten und vier stark anfälligen Sorten ergaben gemäß Tabelle 1 die Anwesenheit von

hydrolysierbaren Gerbstoffen ziemlich regelmäßig bei beiden Vergleichspartnern,

kondensierten Gerbstoffen selten und schwach bei beiden Vergleichspartnern,

Arbutin nicht bei beiden Vergleichspartnern,

Hydrochinon ziemlich regelmäßig bei beiden Vergleichspartnern.

Gerbstoffe und Hydrochinon sind also in Blattextrakten sowohl von resistenten als auch von anfälligen Birnen vorhanden. Die Nachweisproben auf Arbutin haben sich infolge unvereinbarer Reaktionsergebnisse als un-

Tabelle 1

Qualitativer Nachweis von Gerbstoffen, Arbutin und Hydrochinon in Blattextrakten von schorfresistenten und -befallenen Birnen

Nummern der Blattherkünfte:

1. Grüne Jagdbirne 79
2. Frühe aus Trévoux 49
3. „ „ „ 13
4. „ „ „ 12

} schorfresistente Nachkommenschaften freibestäubter Sorten.

5. Solanerbirne
6. Le Lectier
7. Graf Moltke
8. Triumph aus Jodoigne

} stark schorfbefallene Sorten.

Blattherkunft:	1	2	3	4	5	6	7	8
Reaktion auf:	a) Hydrolysierbare und kondensierte Gerbstoffe							
1. Formaldehyd-Salzsäureprobe	hy +	+	+	x +	x	+	+	x +
2. Essigsaures Bleiacetat	hy +	+	+	+	+	+	+	+
3. p-Dimethylaminobenzaldehyd + H_2SO_4	ko +	—	x	—	—	x	—	—
4. Natriumnitrit + 0,1 n-H_2SO_4	hy +	+	+	+	+	+	+	+
	b) Arbutin, nach Fällung der Gerbstoffe mit 1%iger Gelatinelösung							
1. 2 HNO_3 + H_2O	+	+	+	+	+	+	+	+
2. Blattpulver-Mikrosublimation, Löslichkeit in Äther, Alkohol, Wasser	—	—	—	—	—	—	+	—
	c) Hydrochinon, nach Fällung der Gerbstoffe wie oben und Zusatz verd. HCl (1 : 10) im siedenden Wasserbad aufgeschlossen							
1. Phosphormolybdänsäure	+	—	+	x	+	+	+	+
2. Blattpulver-Mikrosublimation in verd. HCl. Löslichkeit in Äther, Alkohol, Wasser	+	+	+	+	+	+	+	+
3. Chinhydronreaktion mit Chinon ..	+	+	+	+	+	x	+	+
4. Ammoniak	+	+	+	+	+	+	+	+

Zeichen: + = positive, x = schwache, — = negative Reaktion ; hy = hydrolysierbarer, ko = kondensierter Gerbstoff.

Näheres über Grundlagen und Methoden der nur mit einem Kennwort bezeichneten Reaktionen siehe bei H. Friedrich (1952), O. Tunmann und L. Rosenthaler (1931) und H. Molisch (1923).

brauchbar erwiesen. Über die Bedeutung des Arbutins für die Entwicklung des Pilzes mußten u. a. die folgenden Nährlösungsversuche Aufschluß geben. Aus drei solchen Versuchen mit Zusatz von vier Wirkstoffen, 1 : 1000 und

1 : 500, einzeln und kombiniert (fünf Röhrchen je Versuchsgruppe), ging folgendes übereinstimmende Verhalten des Pilzes hervor:

Tabelle 2

Entwicklung von *Venturia pirina* auf Nährlösungen[1]) mit Zusatz von vier Wirkstoffen (1 : 1000; 1 : 500). Endergebnisse aus drei Versuchen

Substrat	Konzentration	Entwicklung
a) Nährlösung rein	—	stark
b) Nährlösung + Arbutin	1000 : 1	mäßig stark
Nährlösung + Arbutin	500 : 1	stark
c) Nährlösung + Hydrochinon	1000 : 1	sehr schwach und nur vereinzelt
Nährlösung + Hydrochinon	500 : 1	keine Entwicklung
d) Nährlösung + Tannin	1000 : 1	mäßig
Nährlösung + Tannin	500 : 1	schwach und nur vereinzelt
e)[2]) Nährlösung + Arbutin + Tannin	1000 : 1	mäßig stark
Nährlösung + Arbutin + Tannin	500 : 1	schwach
f) Nährlösung + Brenzkatechin	1000 : 1	sehr schwach und nur vereinzelt
Nährlösung + Brenzkatechin	500 : 1	keine Entwicklung

[1]) Zusammensetzung der Nährlösungen und Versuchszeiten:

1. 5 % Hefeextrakt + 5 % Malz, zitronensauer pH 6; 24. Oktober bis 18. November 1952.
2. 2 % Biomalz, zitronensauer pH 5; 24. November bis 22. Dezember 1952.
3. 4 % Rohrzucker + 0,5 % Pepton „Kasein", zitronensauer pH 5; 17. September bis 5. Oktober 1953.

[2]) In fünf weiteren Wirkstoffkombinationen in Nährlösung wurde keine Pilzentwicklung festgestellt.

Den Versuchsergebnissen zufolge hemmt Arbutin die Pilzentwicklung nicht nur nicht, sondern fördert sie überdies in der stärkeren der beiden Konzentrationsstufen; sein hydrolytisches Spaltprodukt Hydrochinon zeigt in beiden Fällen hingegen starke Hemmwirkung. Tannin, als Vertreter hydrolysierbarer Gerbstoffe, hat die Entwicklung in der schwächeren Konzentration andererseits nur mäßig gehemmt. Demgemäß ist auch in der Kombination Arbutin + Tannin mindestens in der schwächeren Konzentration gutes Pilzwachstum möglich gewesen. Brenzcatechin, o-Dioxybenzolgruppe im kondensierten Gerbstoff Catechin[1]), hat die Entwicklung jedoch weitgehend unterdrückt. In fünf weiteren Wirkstoffkombinationen in Nährlösung hat sich der Pilz nicht entwickelt, u. a. also auch nicht in arbutin- und hydrochinonhaltiger Nährlösung. Hydrochinon und Gerbstoff schlechthin sind somit für den Birnschorf fungostatisch bis fungizid und beide, wie oben geprüft, in beiden Birnenblattypen vorhanden.

[1]) Reines Catechin selber war leider nicht erhältlich.

Tabelle 3

Osmotische Werte von Blattepidermien schorfresistenter und -anfälliger Birnen mittels volummolarer Rohrzuckerlösungen 16. bis 21. Mai 1953

Versuchs-Nr.	Objekt	Befallsgrad	Blattseite	Atm.	
1)	Solanerbirne	5	Ob.	14,3	
	Solanerbirne	5	Un.		14,3
	Grüne Jagdbirne 79	1	Ob.	14,3	
	Grüne Jagdbirne 79	1	Un.		16,0
2)	Le Lectier	4	Ob.	17,8	
	Le Lectier	4	Un.		17,1
	Frühe aus Trévoux 49	0	Ob.	19,6	
	Frühe aus Trévoux 49	0	Un.		17,4
3)	Graf Moltke	4	Ob.	16,0	
	Graf Moltke	4	Un.		17,8
	Frühe aus Trévoux 13	0	Ob.	17,8	
	Frühe aus Trévoux 13	0	Un.		17,8
4)	Triumph aus Jodoigne	5	Ob.	16,0	
	Triumph aus Jodoigne	5	Un.		17,8
	Frühe aus Trévoux 12	0	Ob.	19,6	
	Frühe aus Trévoux 12	0	Un.		19,6

Plasmolysezeit 15 Minuten; Bestimmungen vormittags; Temperaturschwankung 18 bis 20° C

Es käme für die stoffliche Charakterisierung der Schorfresistenz demnach auf Konzentrationsunterschiede vielleicht solcher Verbindungen an, und es fragt sich somit erstens, ob überhaupt definierbare Konzentrationsunterschiede im Zellinhalt zwischen schorfresistenten und stark anfälligen Birnenblättern bestehen, und zweitens, ob bejahendenfalls diese sich auf die gefundenen Pilzhemmstoffe beziehen. Als Hinweis zur Klärung der ersten Frage hatte die Bestimmung der osmotischen Werte von ober- und unterseitigen Epidermiszellen resistenter und anfälliger Blätter durch Plasmolyse mittels volummolarer Rohrzuckerlösungen gedient. Die — je Vergleichspaar simultan bestimmten — osmotischen Werte von vier Vergleichspaaren (Tabelle 3) liegen nun bei den resistenten Blättern oberseits in drei Fällen höher, in einem Falle gleich, unterseits in zwei Fällen höher, in zwei Fällen gleich im Vergleich zu den schorfanfälligen Blättern, d. h. zwischen den beiden Birnenblattypen besteht zum Teil kein Unterschied in der Gesamtkonzentration osmotisch wirksamer Zellinhaltsstoffe, zum größeren Teil ist diese bei den schorffesten Blättern aber deutlich höher.

Da es wohl möglich ist, daß die höhere Konzentration des Zellinhalts bei den resistenten Blättern auf einem höheren Gehalt an reduzierenden Stoffen (Hydrochinon, Gerbstoffe, Zucker u. a.) beruht, wurden diese in beiden Blattypen quantitativ bestimmt. Die Bestimmung war nach folgender Methode erfolgt:

5 g entrippte frische Blattmasse wurden im Mörser mit reinem scharfem Quarzsand unter Zugabe geringer Wassermengen fein zermahlen und als Suspension in einen Meßkolben übertragen; die im Mörser verbliebenen Rückstände wurden mit Aqua dest. ausgewaschen und dem Kolbeninhalt hinzugefügt, worauf dieser auf 100 ccm aufgefüllt wurde. Von dem durch Zentrifugieren von den Rückständen befreiten Blattextrakt wurden 50 ccm abgenommen, zur Zerstörung der Fermente wenige Minuten gekocht, in fließendem Wasser abgekühlt, auf 100 ccm ergänzt und abermals zentrifugiert. Von dem gereinigten Extrakt wurden 25 ccm mit 5 ccm konz. HCl versetzt, im Wasserbad bei 67 bis 70° C während fünf Minuten hydrolysiert, abgekühlt, mit NaOH neutralisiert und auf 50 ccm aufgefüllt. Von dem danach filtrierten Extrakt wurden 15 ccm mit 15 ccm Cu-Lösung nach LUFF-SCHOORL vereinigt und zehn Minuten lang am Rückflußkühler gekocht. Der Reduktionswert der abgekühlten und so vorbereiteten Lösung wurde daraufhin nach SCHOORL (Handbuch der Lebensmittelchemie II, 2) mit 0,1 n-$Na_2S_2O_3$ jodometrisch bestimmt und auf Milligramm und % Glukose umgerechnet.

Die auch die Reduktionswerte weiterer reduzierender Substanzen, wie hier z. B. phenolische Verbindungen, einschließenden Glukosewerte sind nun gemäß Tabelle 4 in den Blättern der schorfresistenten Birnen bei allen vier Vergleichspaaren etwas höher als in denen der anfälligen. Sicher wird nicht der Zucker in dem höheren Gehalt der resistenten Blätter an reduzierenden Substanzen als Resistenz bewirkender Stoff angesprochen werden können, da erfahrungsgemäß die entsprechenden Prozentsätze reiner Glukose in Nährlösung die Schorfentwicklung keineswegs hemmen. Sofern sich hinter den Konzentrationsunterschieden zwischen den beiden Vergleichspartnern überhaupt ein stoffliches Resistenzprinzip verbirgt, könnte dies, nachdem Arbutin und Zucker aus der Betrachtung ausgeschieden sind, möglicherweise in dem unterschiedlichen Gehalt der Blätter an phenolischen Verbindungen, also vorwiegend Gerbstoffen und Hydrochinon bestehen.

Tabelle 4

Bestimmung reduzierender Substanzen in Blättern von schorfresistenten und -anfälligen Birnen
5. bis 11. Juni 1953

Versuchs-Nr.	Objekt	Befallsgrad	Reduzierende Substanzen in 100 cm³ Blattextrakt, berechnet als Glucose	
			mg	%
1	Solanerbirne	5	8,95	2,38
	Grüne Jagdbirne 79	1	12,95	3,45
2	Le Lectier	4	10,45	2,78
	Frühe aus Trévoux 49	0	16,7	4,45
3	Graf Moltke	4	7,95	2,12
	Frühe aus Trévoux 13	0	14,2	3,78
4	Triumph aus Jodoigne	5	9,45	2,52
	Frühe aus Trévoux 12	0	12,7	3,38

Die Gerbstoffe wurden nach der Methode von LANG (1951) bestimmt: Aus 1 g frischer Blattmasse wurde zunächst, wie oben, ein von Rückständen befreiter Extrakt hergestellt

(100 ccm). 10 ccm davon wurden im Zentrifugenglas mit 5 ccm basischer Zinkazetatlösung nach MALVEZIN zwecks Ausfällung der Gerbstoffe versetzt und zentrifugiert. Der mit verdünnter Zinkazetatlösung wiederholt ausgewaschene und zentrifugierte Niederschlag wurde mit 2,5 ccm 5 %iger H_2SO_4 gelöst, diese Lösung mit dest. Wasser auf 10 ccm aufgefüllt, durchgeschüttelt und zentrifugiert. Von der so vorbereiteten Lösung wurde 1 ccm mit 0,5 ccm Phosphorwolframsäure nach FOLIN versetzt und mit gesättigter Na_2CO_3-Lösung auf 10 ccm aufgefüllt. Der Extinktionswert der dabei auftretenden, 15 Minuten konstant bleibenden Blaufärbung wurde daraufhin photometrisch als Gerbstoffgehalt der Lösung bestimmt.

Tabelle 5

Photometrische Gerbstoffbestimmung an Blattextrakten von schorfresistenten und -anfälligen Birnen
Juni 1953

Versuchs-Nr.	Objekt	Befallsgrad	E
1	Solanerbirne	5	0,267
	Grüne Jagdbirne 79	1	0,20
2	Le Lectier	4	0,517
	Frühe aus Trévoux 49	0	0,34
3	Graf Moltke	4	0,41
	Frühe aus Trévoux 13	0	0,32
4	Triumph aus Jodoigne	5	0,29
	Frühe aus Trévoux 12	0	0,505
5	Winternelis	5	0,42
	Flaschenbirne 6	1	0,323
6	Dr. Traugott Müller	4	0,437
	Sorte 3/262	0	0,452
7	St. Germain Vauquelin	4	0,317
	Frühe aus Trévoux 206	0	0,52

Die Extinktionswerte in Tabelle 5 liegen in zwei Fällen nahezu gleich (Nr. 1 und 6), in drei Fällen in den Extrakten der schorfanfälligen Birnenblätter höher (Nr. 2, 3, 5) und in zwei Fällen in denen der resistenten Blätter höher (Nr. 4, 7) als bei den jeweiligen Vergleichspartnern, d. h. die Unterschiede im Gerbstoffgehalt zwischen resistenten und anfälligen Blättern haben sich nicht gleichsinnig verhalten. Hiernach können die Gerbstoffe keinen Hinweis auf die Grundlagen der Schorfresistenz bieten. Dieser Befund konnte durch das Ergebnis eines weiteren Versuchs gestützt werden: Wenn die nach Tabelle 5 in relativ schwacher Konzentration in den Birnenblättern vorhandenen Gerbstoffe fungostatisch für *Venturia pirina* sein würden, so müßte der Pilz sich auf Extrakten von resistenten Blättern nach Ausfällung der Gerbstoffe beispielsweise mit Gelatinelösung besser entwickeln als auf unveränderten Extrakten. Zu dem Zweck wurden Versuche mit Blattextrakten von drei schorfresistenten Herkünften in der Weise durchgeführt, daß Schorfkonidien 1. auf — mit einer Spur 0,1 n-HCl angesäuerter — 1%iger Gelatinelösung, 2. auf mit jener Lösung entgerbtem Blattextrakt und 3. auf

unbehandeltem Blattextrakt kultiviert wurden. Alle drei Versuche hatten zu folgenden übereinstimmenden Ergebnissen geführt, auf deren wertmäßige Wiedergabe ihrer Eindeutigkeit wegen hier verzichtet werden kann: 1. auf Gelatinelösung hatte der Pilz sich schwach entwickelt, 2. auf entgerbtem Blattextrakt nur geringfügig besser, 3. auf reinem Blattextrakt am besten. Die Gerbstoffe haben hier also nicht fungostatisch gewirkt. — Schließlich haben auch die Nährlösungsversuche mit Zusatz von reinem Tannin (Tabelle 2, d) gezeigt, daß in der Konzentration 1 : 1000 immerhin eine, wenn auch mäßige Pilzentwicklung möglich gewesen ist. Somit scheiden auch die in Birnenblättern nachgewiesenen Gerbstoffe in ihrer schwachen Konzentration aus dem Kreis der gemutmaßten fungostatischen Stoffwechselprodukte aus, und es verbleibt demnach noch die Gehaltsbestimmung von f r e i e n phenolischen Körpern (Hydrochinon) bei den Vergleichspartnern.

Als Grundlage für diese Bestimmung hat die neue, zur Arbutinbestimmung von THIES und SULC (1951) benutzte Analyse nach LINDPAINTNER (1939) gedient. 2 g lufttrockene, entrippte Blätter wurden im Mörser mit scharfem Quarzsand pulverisiert und ohne Rückstände in eine Hülse und in dieser auf den Soxhlet übertragen, worin sie sechs Stunden mit Äther extrahiert wurden. Dem fertigen Extrakt wurden zur Aufnahme der phenolischen Verbindungen 20 ccm Aqua dest. zugesetzt, der Äther wurde am Liebigkühler abdestilliert. Der Rückstand wurde filtriert und mit 20 ccm Aqua dest. heiß nachgewaschen. Das Filtrat wurde nach Zusatz von 0,3 g Tierkohle zur Entfärbung und 0,5 g Zinkstaub zur Reduktion von etwa oxydiertem Hydrochinon fünf Minuten lang im siedenden Wasserbad am Rückflußkühler erhitzt, heiß filtriert und nachgewaschen, auf 150 ccm ergänzt, mit $NaHCO_3$ alkalisiert und mit 0,1 n-Jodlösung unter Zusatz von Stärke als Indikator titriert.

Durch die im Gegensatz zum Arbutin und Zucker leichte Ätherlöslichkeit des leicht oxydierbaren Hydrochinons ist also ein zweiwertiges Phenol aus Birnenblattextrakten isolierbar und jodometrisch bestimmbar gewesen. Die in Tabelle 6 enthaltenen Meßzahlen an verbrauchter 0,1 n-Jodlösung weisen zweifellos auf nur minimale Mengen Hydrochinon hin, was angesichts der bekannten Toxizität dieses Körpers für die Zelle auch nicht anders zu erwarten ist. Es ist dabei jedoch bemerkenswert, daß die Extrakte der resistenten Blätter in drei von vier Proben mehr als das Doppelte und in der vierten Probe auch mehr Jod verbraucht haben, dementsprechend auch mehr freies Phenol besessen haben müssen als die der anfälligen.

Die oben bei den resistenten Blättern nachgewiesene, größerenteils höhere Gesamtkonzentration osmotisch wirksamen Zellinhalts sowie ihr höherer Gehalt an reduzierenden Substanzen dürften u. a. demnach auch auf freies Hydrochinon oder andere ätherlösliche freie Phenole als fungizide Verbindungen zurückgeführt werden können. — Zum qualitativen Nachweis des vorwiegend anzunehmenden Hydrochinons wurde die vorstehende Analyse mit zwei Proben resistenter Blätter bis zum alkalischen Filtrat wiederholt; nach langsamem Eindampfen desselben wurde es erneut mit Äther aufgenommen und nach kurzer Zeit vorsichtig auf plangeschliffene Objektträger gegossen. Diese wurden mit ebensolchen Objektträgern als Rezipienten für die Mikrosublimation bis auf einen Luftschlitz bedeckt. Nach Abdunsten des Äthers unter gelinder Wärmezufuhr wurden auf beiden Gläsern der Proben

dimorphe Kristalle: hexagonale Prismen, monokline Blättchen und x-förmige Kristallskelette, wie sie alle für Hydrochinon charakteristisch sind, mikroskopisch festgestellt (siehe Abb. 1). Die Identitätsproben des Sublimats mit Chinon und mit Ammoniak (Molisch) verliefen positiv. Es wurde die Mikrosublimation nebst den Identitätsreaktionen mit reinem Hydrochinon zur Kontrolle durchgeführt und dabei eine Übereinstimmung der Ergebnisse erhalten. Für eine Schmelzpunktbestimmung des Mikrosublimats war leider

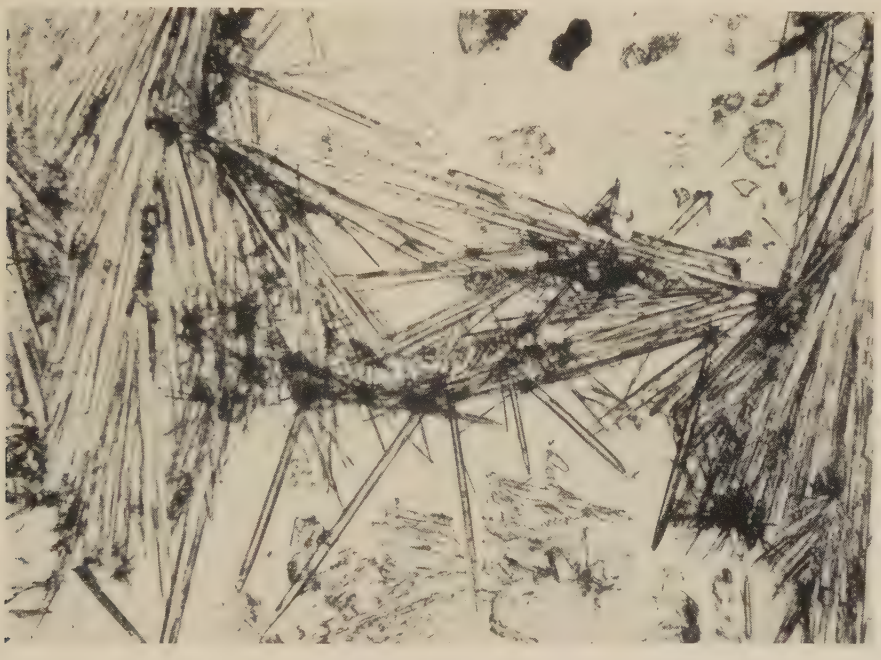


Abb. 1. Sublimierte Hydrochinonkristalle aus schorfresistenten Birnenblättern. Vergr. 100fach

das erforderliche Arbeitsgerät nicht vorhanden. Dennoch kann an der Ermittlung von Hydrochinon in den Blattproben wohl nicht gezweifelt werden. — Freilich würde der Wert der Befunde erhöht werden, wenn diese sich auf die direkt und ausschließlich parasitierte Blattepidermis allein bezögen. Jedoch sind Unterschiede im Hydrochinongehalt zwischen Epidermien resistenter und anfälliger Blätter bei den geringen Mengen einwandfrei isolierter Gewebe mit hiesigen Mitteln quantitativ nicht erfaßbar. Statt dessen wurde nach etwaigen visuellen Unterschieden dieser Art zwischen den betreffenden Epidermien mikroskopisch gesucht. Flächenschnitte von ober- und unterseitigen Epidermien der beiden Blattypen wurden in verschlossenen Fixiergläschen mit überschüssigem Äther unter wiederholtem Schütteln zweieinhalb Stunden lang extrahiert und daraufhin nach dem angegebenen Verfahren sublimiert und mikroskopisch durchmustert. Zur Vermeidung von subjektiver

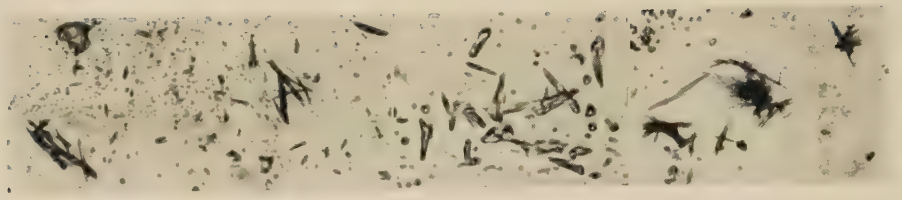


Abb. 2. Sublimierte phenolische Kristalle aus Epidermien von schorfresistenten Birnenblättern. Vergr. 90fach

Urteilsbeeinflussung hat Verfasser die Sublimate von einer über ihre Herkünfte nicht orientierten Person auf Phenolgehalt so beurteilen lassen, wie dies in Tabelle 6 wiedergegeben ist. Der zufolge sind aus dem Inhalt der resistenten Epidermien von drei Vergleichsproben (Tabelle 6, +) kleine äther-, alkohol- und wasserlösliche Kristalle von gleichen Formen wie oben abgeschieden worden (Abb. 2), aus dem der anfälligen Gewebe hingegen nicht oder zum Teil doch nur in solch zweifelhaften Spuren, daß darin kein sicherer Kristallnachweis mehr besteht (—); in einer Probe sind andererseits für beide Epidermien solche — quantitativ allerdings nicht abschätzbare — Sublimate festgestellt worden. Wenn auch mit diesen zu geringen Kristallmengen keine Identitätsreaktionen auf Hydrochinon ausgeführt werden konnten, so ist auf Grund der Kristallformen und des Löslichkeitsverhaltens sein Nachweis hiermit doch wahrscheinlich. Es kann demnach angenommen werden, daß in Birnenblättern erstens freie Phenole auch in der Epidermis enthalten sind und zweitens diese Verbindungen in häufig auffällig größerer Menge in schorffesten Epidermien vorliegen als in anfälligen.

Tabelle 6

Hinweis auf den Gehalt an freien phenolischen Verbindungen in Blattextrakten und Mikrosublimation solcher Verbindungen nach Extraktion mit Äther aus den Epidermien von schorfresistenten und -anfälligen Birnenblättern
Juli 1953

Versuchs-Nr.	Objekt	Befallsgrad	Verbrauch ccm 0,1 n Jodlösung	Mikrosublimation
1	Solanerbirne	5	0,18	—
	Grüne Jagdbirne 79	1	1,47	+
2	Le Lectier	4	0,31	—
	Frühe aus Trévoux 49	0	0,82	+
3	Graf Moltke	4	0,20	+
	Frühe aus Trévoux 13	0	0,92	+
4	Triumph aus Jodoigne	5	0,48	—
	Frühe aus Trévoux 12	0	0,85	+

+ = positive Reaktion — = negative Reaktion

Zusammenfassung und Besprechung

In vorstehenden Versuchen und chemischen Nachweisen sind ein oder mehrere die Grundlagen der Blattschorfresistenz von Birnen weitgehend bestimmende Stoffwechselprodukte an Stelle der Klärung der schwer entwirrbaren, komplexen Stoffwechselverhältnisse von resistenten und anfälligen Birnen zu ermitteln versucht worden. Von solchen gemutmaßten Blattinhaltsstoffen wurden das Glukosid Arbutin, Gerbstoffe und Hydrochinon untersucht. Arbutin wird, Nährlösungsversuchen mit Arbutinzusätzen zufolge, selbst in stärkerer Konzentration (1 : 500) vom Birnschorf (*Venturia pirina*) recht gut vertragen. Auch Rudloff (1935) kam in seinen Keimungsversuchen mit für den Apfelschorf fungiziden Substanzen in der Vergleichsprobe Arbutin und Birnschorf (1 : 1000) zu demselben Ergebnis. — Gerbstoffe sind, gemäß photometrischer Gehaltsbestimmung von Extrakten resistenter und anfälliger Blätter, in Birnenblättern nur in relativ schwacher Konzentration enthalten und wirken, wie durch Nährlösungsversuche mit synthetischen (mit Zusatz von Tannin 1 : 1000) und natürlichen (entgerbte und unbehandelte Blattextrakte) Lösungen dargetan ist, kaum bis gar nicht hemmend auf den Pilz. Beide Inhaltskörper scheiden somit aus der Betrachtung aus. Freies Hydrochinon und vielleicht weitere freie Phenole sind, laut jodometrischer Gehaltsbestimmung, in schorfresistenten Blättern offenbar in stärkerer Konzentration anwesend als in anfälligen. Es ist in vorbehandelten Extrakten resistenter Blätter qualitativ nachweisbar, und in der direkt und ausschließlich parasitierten Epidermis konnte seine Anwesenheit zumeist nur in schorffesten Epidermien wahrscheinlich gemacht werden. Nährlösungsversuche mit Hydrochinonzusätzen haben, im Gegensatz zu Rudloffs entsprechendem Versuch (1 : 1000), deren hohe Toxizität für den Pilz erwiesen. Demnach kann im Hydrochinon ein die Blattschorfresistenz von Birnen deutlich lenkendes fungizides Stoffwechselprodukt erblickt werden.

Obgleich Arbutin selber keinen fungostatischen Effekt für den Birnschorf besitzt, so ist seine Anwesenheit in den Birnenblättern für die Schorfresistenz doch sicher wichtig, da es hydrolytisch in Hydrochinon und Glukose gespalten werden kann, so daß durch Bildung und Zerfall des Glukosids der Hydrochinongehalt im Blatt reguliert wird. Dieser wird ganz gewiß von dem enzymatisch bestimmten Mengenverhältnis von Bildung : Spaltung : Resynthese des Arbutins in der Zeiteinheit abhängen, wobei alle erdenklichen den Arbutin- und Hydrochinongehalt betreffenden Kombinationen möglich sind. Nach der Spaltung kann es nämlich wohl geschehen, daß ein Teil des glukosidischen Zuckers aus dem Glukosidstoffwechsel in den Kohlenhydratstoffwechsel hinübergeht und dort festgelegt wird. In diesem Fall hat das Hydrochinon seinen Partner zur Resynthese des Glukosids mindestens für eine gewisse Zeit verloren, so daß es frei ist. Solche Fälle dürften namentlich gegen Ende der Vegetation nicht selten sein, wo das Arbutin und die Kohlenhydrate zur Deponierung in Knospen und Folgemeristemen aus den Blättern am stärksten abwandern. Vielleicht ist dies, von seiten des Wirtes aus gesehen, mit ein Grund dafür, weshalb ab Ende August selbst zuverlässige

Schorfstämme auf anfälligen Birnen häufig nicht mehr angehen. Jedenfalls aber weist das Hydrochinon darauf hin, daß die stofflichen Grundlagen der Blattschorfresistenz bei der Birne eng an ihren Glukosidstoffwechsel geknüpft sind, der seinerseits von der unterschiedlichen Aktivität der betreffenden Enzyme geleitet wird.

Herrn Dr. Paul SCHWARZE darf ich für viele wertvolle Ratschläge für die quantitativen Bestimmungen und hilfsbereite Unterstützung in der Durchführung derselben an dieser Stelle herzlich danken.

Literaturverzeichnis

1. BÖMER, JUCKENACK, TILLMANNS, 1935: Handbuch der Lebensmittelchemie **II**, 2, S. 871 bis 873.
2. FRIEDRICH, H., 1952: Über pflanzliche Gerbstoffe. Die Pharmazie **7**, S. 284—291.
3. HERRMANN, K., 1952: Nachweis und Bestimmung der Gerbstoffe in Drogen. Die Pharmazie **7**, S. 320—325.
4. KLEIN, G., 1932: Handbuch der Pflanzenanalyse **3**, II/2, S. 813—815.
5. LANG, W., 1951: Über die quantitative Bestimmung von Gerbstoffen. Die Pharmazie **6**, S. 137—140.
6. MOLISCH, H., 1923: Mikrochemie der Pflanze **3 A**, S. 185—186.
7. RUDLOFF, C. F., 1935: *Venturia inaequalis* (Cooke) Aderhold. I. Der Einfluß des Nährbodens auf den Pilz und die Erhaltung seiner Pathogenität. Gartenbauwiss. **9**, S. 80—82.
8. SIEBS, E., 1951: Über die Schorfanfälligkeit von Birnen und die Aussichten auf ihre Resistenzzüchtung. Phytopath. Z. **18**, S. 270—286.
9. — —, 1954: Untersuchungen über die Blattschorfresistenz von Birnen (II). Phytopath. Z. **22**, S. 437—448.
10. THIES, H. und SULC, D., 1951: Beiträge zur Kenntnis von *Arbutus unedo* L. II. Über die quantitative Bestimmung von Arbutin und Gerbstoffen in Erdbeerbaumblättern. Die Pharmazie **6**, S. 169—172.
11. TUNMANN, O. und ROSENTHALER, L., 1931: Pflanzenmikrochemie, S. 582—585.

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich

Über den Einfluß der Ernährung auf die Toxinempfindlichkeit von Tomatenpflanzen[1])

Von

H. Zähner

Mit 15 Abbildungen

Inhalt: A. Allgemeiner Teil. I. Einleitung. II. Über den Chemismus der Welketoxine von *Fusarium lycopersici* Sacc. III. Über den Wirkungsmechanismus von Lycomarasmin und Fusarinsäure. IV. Die Herkunft der geprüften Toxine. — B. Die Methoden. I. Die Bestimmung der Welkegiftempfindlichkeit von Tomatenpflanzen. II. Die Anzucht der Testpflanzen. III. Statistische Methoden. — C. Welkeversuche. I. Der Einfluß der Konzentration der ausgeglichenen Nährlösung auf die Toxinempfindlichkeit. II. Der Einfluß der unausgeglichenen Nährlösungen auf die Welkegiftempfindlichkeit. III. Der Einfluß einzelner Nährstoffe in hohen Konzentrationen auf die Welkegiftempfindlichkeit. IV. Über die Beziehungen zwischen Toxinresistenz und Erkrankungsdisposition. — D. Physiologische Untersuchungen zur Fusarinsäureresistenz der Stickstoffmangel-Pflanzen. I. Fragestellung. II. Passageversuche mit Fusarinsäure. III. Welkeversuche mit der Modellsubstanz Komplexon III. IV. Die Störung der Sauerstoffaufnahme durch die Fusarinsäure. V. Über den Einfluß der Fusarinsäure auf das Protoplasma. VI. Besprechung der Ergebnisse der Protoplastenveränderungen durch die Fusarinsäure. — E. Zusammenfassung. — F. Literatur.

A. Allgemeiner Teil

I. Einleitung

Im Rahmen der Untersuchungen, die am Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule über das Problem der Welkekrankheiten ausgeführt worden sind und die hauptsächlich die Frage des toxigenen Welkens erfassen, schien es notwendig, den Einfluß der Ernährung auf die Krankheitsbereitschaft im allgemeinen und auf die Toxinempfindlichkeit im besonderen zu prüfen. Die Welkekrankheit der Tomate (verursacht durch *Fusarium lycopersici* Sacc.) wurde als Untersuchungsbeispiel gewählt, da bisher nur bei ihr die Isolierung und Reindarstellung von Welketoxinen gelang.

1) Die vorliegende Arbeit wurde durch einen Beitrag aus der Schweizerischen Volkswirtschaftsstiftung unterstützt. Ich möchte den zuständigen Behörden auch hier meinen Dank wiederholen.

Der Einfluß der Ernährung auf die Krankheitsbereitschaft der Wirtspflanze ist in bezug auf das Wirt-Erreger-Verhältnis in drei Komponenten aufzuteilen:

1. Einfluß der Ernährung auf die Infektionsanfälligkeit.
2. Einfluß der Ernährung auf die Generalisationswiderstandsfähigkeit.
3. Einfluß der Ernährung auf die Erkrankungswiderstandsfähigkeit.

Die Abgrenzung dieser drei theoretisch festgelegten Komponenten am einzelnen Beispiel bereitet Schwierigkeiten, da sie sich teilweise überlagern. Es ist daher sicherer, nur in den Einfluß der Ernährung auf die Infektionsanfälligkeit (ausgedrückt im Prozentsatz der angegangenen Infektionen) und in den Einfluß der Ernährung auf die Erkrankung (festgehalten im Krankheitsindex) zu differenzieren, wie dies STODDARD und DIMOND (1948) machten. Seit es gelungen ist, für die Welkekrankheit der Tomate die Welketoxine zu isolieren (PLATTNER und CLAUSON-KAAS, 1944; CLAUSON-KAAS, PLATTNER und GÄUMANN, 1944; GÄUMANN, NAEF-ROTH und MIESCHER, 1950; BOLLER, 1951; GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL, 1952; GÄUMANN, STOLL und KERN, 1953), besteht die Möglichkeit, die ernährungsphysiologisch bedingte Verschiebung der Toxinresistenz unabhängig vom Erreger zu bestimmen. Die Toxinresistenz muß bei toxigenen Erregern als wichtige Komponente der Krankheitsbereitschaft betrachtet werden.

COOK (1937), FOSTER und WALKER (1946), WALKER und FOSTER (1947), STODDARD und DIMOND (1948) haben gezeigt, daß die Krankheitsanfälligkeit der Tomatenpflanzen in erheblichem Ausmaß durch die unterschiedliche Ernährung beeinflußt wird. Außer einem knappen Hinweis in der Arbeit von GÄUMANN, NAEF-ROTH und MIESCHER (1950) finden sich aber über den Einfluß der Ernährung auf die Toxinresistenz der Tomatenpflanzen keine Angaben in der Literatur.

Es ist die Aufgabe der vorliegenden Arbeit, zu klären, ob eine Beeinflussung der Toxinresistenz durch die Ernährung möglich ist. Falls ja, soll auch untersucht werden, in welcher Richtung und in welchem Ausmaß.

II. Über den Chemismus der Welketoxine von *Fusarium lycopersici* Sacc.

a) Lycomarasmin

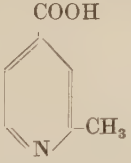
Als erstes Welketoxin von *Fusarium lycopersici* Sacc. konnte das Lycomarasmin isoliert werden (CLAUSON-KAAS, PLATTNER und GÄUMANN, 1944; PLATTNER und CLAUSON-KAAS, 1944). Bis heute ist kein weiterer Produzent des Lycomarasmins gefunden worden. Trotz einer Reihe von Arbeiten konnte keine allseits befriedigende Strukturformel für diesen aus Asparaginsäure, Glykokoll, Brenztraubensäure und Ammoniak aufgebauten Körper gefunden werden (PLATTNER und CLAUSON-KAAS, 1944, 1945; PLATTNER, CLAUSON-KAAS, BOLLER und NAGER, 1948; WOLLEY, 1946, 1948a und 1948b; BOLLER, 1951).

Auffallend und für das Arbeiten unangenehm ist die Unstabilität der wäßrigen Lösung des Lycomarasmins bei höheren pH-Werten. Lycomarasmin

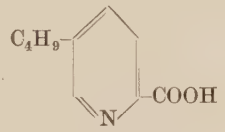
zerfällt leicht in die Substanz J und Ammoniak (Boller, 1951), wobei es seine Fähigkeit zur Chelatbildung und damit auch seine biologische Aktivität verliert. Mit Eisen bildet das Lycomarasmin den Eisen-Lycomarasmin-Komplex (Gäumann, Naef-Roth und Miescher, 1950). Da angenommen wurde, daß das Lycomarasmin in der Pflanze als Eisen-Lycomarasmin-Komplex wirksam sei (Gäumann, Kern und Sauthoff, 1952), wurde auch dieser Komplex mit in die Untersuchungen einbezogen.

b) Fusarinsäure

Schreiner und Shorey isolierten 1908 aus weizenmüden Böden die 2-Methylpyridin-4-Karbonsäure (Formel I). Sie zeigten, daß Weizenpflanzen nach der Aufnahme geringer Mengen dieses Stoffes eingingen. 26 Jahre später gelang Yabuta (1934) und seinen Mitarbeitern aus dem Kulturfiltrat von *Fusarium heterosporum* Nees. die Isolation eines ähnlichen Stoffes, der Fusarinsäure (Formel II). Als weitere Fusarinsäureproduzenten konnten gefunden werden: *Fusarium vasinfectum* Atk., *Giberella Fujikuroi* Woll. und das hier interessierende *Fusarium lycopersici* Sacc. (Gäumann, Naef-Roth und Kobel, 1952). Wie Versuche zeigten, besitzen die Fusarinsäuren der verschiedenen Herkünfte, im Rahmen des Versuchsfehlers, dieselbe biologische Aktivität (Gäumann, Naef-Roth und Kobel, 1952). Bis heute konnte allerdings die strukturelle Identität noch nicht bewiesen werden.



Formel I
2-Methylpyridin-4-Karbonsäure



Formel II
Fusarinsäure

c) Vasinfuscarin

Außer Lycomarasmin und Fusarinsäure konnte bisher im Kulturfiltrat noch das Vorhandensein eines dritten Toxins nachgewiesen werden: das Vasinfuscarin. Es liegt bis heute als ungereinigte Rohsubstanz vor und kann daher noch nicht für Testzwecke verwendet werden. Über den Chemismus dieses dritten, die Gefäße bräunenden Stoffes ist außer Vermutungen wenig bekannt. Es wird angenommen, daß es sich um ein enzymatisches Eiweiß handle (Gäumann, Stoll und Kern, 1953). Andere Autoren vermuten, daß die Gefäßbräunung auf ein Pektin abbauendes Enzym zurückzuführen sei (Davis, 1953; Gothoskar und Scheffer, 1953; Scheffer, Walker und Stahmann, 1953; Winstead und Walker, 1954).

III. Über den Wirkungsmechanismus von Lycomarasmin und Fusarinsäure

Beiden Stoffen, so verschieden sie in chemischer Hinsicht auch sind, ist die Befähigung zur Chelatbildung gemeinsam. Es darf angenommen werden, daß ein Teil ihrer Welkeaktivität auf dieser Eigenschaft beruht (Dimond

und WAGGONER, 1952, 1953; WAGGONER und DIMOND, 1953; DEUEL, 1954; GÄUMANN und NAEF-ROTH, 1954). Diese Annahme läßt sich durch zwei Hinweise stützen: Erstens zeigen andere Chelatbildner ebenfalls Toxinwirkung, und zweitens verschwindet die Toxinwirkung teilweise nach Zusatz von Spurenelementen (GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL, 1952; TAMARI und KAJI, 1952, 1953; NAEF-ROTH und REUSSER, 1954, GÄUMANN und NAEF-ROTH, 1954; DEUEL, 1954).

Durch die Chelatbildung wird der Spurenelementhaushalt der Zellen gestört, da die katalytisch wirksamen Kationen der metallhaltigen Enzyme gegen andere Kationen ausgetauscht werden, welche nicht oder anders wirkend sind. Der durch die Metallchelate erzeugte Überschuß an Metallionen wirkt oft toxischer als der durch den Chelatbildner bewirkte Mangel an lebenswichtigen Ionen. Durch das Metallchelat werden Schwermetallionen in die Zellen hineingebracht und dort gegen andere Kationen ausgetauscht. Das ist der Grund, weshalb Eisen-Lycomarasmin und die Eisen-Komplexone giftiger wirken als die noch ungesättigten Komplexbildner (GÄUMANN, NAEF-ROTH und MIESCHER, 1950; GÄUMANN und NAEF-ROTH, 1954; HERZFELD, PRIJS und ERLENMEYER, 1953).

Für die Fusarinsäure ist dies jedoch nicht der Fall, da die Schwermetallkomplexe dieser Verbindung wasserunlöslich sind. Wir müssen annehmen, daß die Fusarinsäure nach der Absättigung mit Metallkationen in den Zellen ausfällt. Dies dürfte mit ein Grund sein, weshalb bisher die Fusarinsäure nicht aus kranken Pflanzen isoliert werden konnte.

IV. Die Herkunft der verwendeten Welketoxine

Das Lycomarasmin wurde durch Dr. BOLLER aus dem Kulturfiltrat von *Fusarium lycopersici* Sacc., Stamm ETH 5414, isoliert und durch mehrmaliges Umfällen gereinigt. Er stellte auch den Eisenkomplex des Lycomarasmins her. Dr. A. BOLLER möchte ich für die freundliche Mitarbeit meinen besten Dank aussprechen.

Da die Möglichkeit besteht, Fusarinsäure synthetisch herzustellen, kann die Aufarbeitung von Kulturfiltraten umgangen werden. Die synthetische Fusarinsäure besitzt zudem den Vorteil größter Reinheit. Die Synthese der Fusarinsäure wurde durch PLATTNER, KELLER und BOLLER (1954) ausgeführt.

B. Methoden

I. Die Bestimmung der Welkegiftempfindlichkeit von Tomatenpflanzen

Über die Testung von Welketoxinen wurde in einer Reihe von Arbeiten des Institutes für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule berichtet (GÄUMANN, NAEF-ROTH und MIESCHER, 1950; GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL, 1952). Wie es sich in weiteren Arbeiten zeigte, spielen die Umweltsfaktoren während der Testzeit und während des Wachstums der Testpflanzen eine große Rolle (GÄUMANN und NAEF-ROTH,

1950 a und b, 1953; GÄUMANN, 1951). Die Versuchsbedingungen wurden daher für die vorliegenden Untersuchungen weitgehend standardisiert.

Versuchsbedingungen:

a) Testpflanzen: Sechs bis acht Wochen alte Tomatenpflanzen; pro Verfahren 15 Pflanzen, davon wurden je die obersten vier Blätter dem Test unterworfen.

b) Temperatur während der Testzeit: 21 ± 1° C, durch Thermostat ausreguliert.

c) Luftfeuchtigkeit während der Testzeit: 60 bis 70 % relative Feuchtigkeit, hygrostatisch geregelt.

d) Belichtung während des Testes: Die Pflanzen wurden während der ganzen Testzeit durch Fluoreszenzlampen (Philips TL 25 w/33) im Abstand von etwa 60 cm belichtet.

e) Testzeit: Von der Toxinaufnahme bis zur Bonitierung verflossen immer 48 Stunden.

f) Toxindosierung: Als Dosis minima oder kritische Dosis bezeichnen wir bei Welketoxinen jene Giftmenge, die (bei einer bestimmten Konzentration) je kg Lebendgewicht notwendig ist, um unter bestimmten äußeren Bedingungen eine durchschnittliche Schädigung von der Intensitätsstufe 1,5 auszulösen (GÄUMANN, NAEF-ROTH, REUSSER und AMANN, 1952). Da Werte unterhalb 1,5 nur mit geringerer Genauigkeit abgelesen werden können, wurde bei allen Versuchen die 1,5fache Menge der Dosis minima verabreicht, so daß sich die zu erwartende Schädigung der normal ernährten Pflanzen zwischen 2 und 3,5 bewegte. Die verabreichten Toxinmengen betrugen:
Lycomarasmin: 225 mg je kg Lebendgewicht, bei einer Konzentration von $2{,}5 \cdot 10^{-3}$ molar.
Eisen-Lycomarasmin: 60 mg je kg Lebendgewicht, in einer Konzentration von $0{,}625 \cdot 10^{-3}$ molar.
Fusarinsäure: 225 mg je kg Lebendgewicht, in einer Konzentration von $5 \cdot 10^{-3}$ molar.

g) Die Wasserstoffionenkonzentration der Toxinlösungen wurde einheitlich für alle Versuche durch Zugabe von verdünnter Natronlauge auf 6,5 eingestellt. Dem pH-Wert der Fusarinsäurelösung kommt spezielle Bedeutung zu, da mit sinkendem pH das Verhältnis zwischen Stengelschädigung und Blattschädigung in Richtung vermehrter Stengelschädigung verschoben wird.

h) Bonitierung: Als Maßstab für die Schädigungen diente eine Skala von 0 bis 4. Null bedeutet keine sichtbare Schädigung, während 4 anzeigt, daß die Gewebe größtenteils abgestorben sind. Die genaue Beschreibung der Intensitätsstufen 0 bis 4 für die einzelnen Toxine findet sich in der Literatur (GÄUMANN, NAEF-ROTH und MIESCHER, 1950; GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL, 1952).

Großes Gewicht mußte auf die Erzielung von ausgeglichenen Pflanzen innerhalb der Verfahren gelegt werden, was durch strenge Auslese bei der Auspflanzung teilweise erreicht wurde. Eine weitere Auslese erfolgte vor dem Test, da nur Pflanzen, die in Größe und Aussehen dem Mittel des Verfahrens entsprachen, dem Test unterworfen wurden.

II. Die Anzucht der Testpflanzen

a) Kulturmethode

Für die Ernährungsversuche wurde die Wasserkultur gewählt, für deren allgemeine Beschreibung auf die zusammenfassende Literatur verwiesen sei (HOAGLAND, 1944; HEWITT, 1952; SCHROPP, 1951). Die Wasserkultur besitzt gegenüber der Sandkultur den Vorteil, daß das Wurzelwachstum und der Zustand der Nährlösung zu jeder Zeit kontrolliert werden kann.

Nach der Anzucht der Pflanzen in steriler Erde (zwei bis drei Wochen nach der Aussaat) wurden die Pflanzen abgeschnitten und in Glaswolle versetzt: jede Pflanze in einen kleinen Glaswolleballen, der in ein Tongefäß ohne Boden gelegt wurde. Je vier Tongefäße wurden so weit in einen 5 bis 6 l fassenden glasierten Tontopf eingesenkt, daß die Nährlösung anfänglich die Glaswolle befeuchtete. Später konnte der Spiegel der Nährlösung 3 bis 5 cm unter die Glaswolle abgesenkt werden. Auf diese Weise bildeten die Pflanzen schon wenige Tage nach dem Versetzen neue Wurzeln, welche die Glaswolle durchwuchsen und in die Nährlösung eintauchten. 20 bis 25 Tage nach dem Versetzen wurden die Pflanzen dem Test unterworfen. Nach dieser Zeit waren sie, je nach der Nährlösung, 15 bis 40 cm hoch und besaßen sechs bis zwölf Blätter. Drei Wochen nach dem Umpflanzen unterschieden sich die Pflanzen der verschiedenen Verfahren deutlich, so daß die Unterschiede zwischen den Verfahren größer waren als die Variabilität innerhalb der Verfahren.

Die Anzucht der Pflanzen erfolgte im Gewächshaus bei einer Lufttemperatur, die sich, den natürlichen Tagesschwankungen folgend, zwischen 15 und 35 ° C bewegte. Die Lufttemperatur war aber für alle Verfahren eines Versuchs dieselbe, da sich die 320 Pflanzen einer Versuchsreihe immer in demselben Raume befanden. Die Nährlösungstemperatur wurde mit Hilfe einer Troganlage (Beschreibung siehe GÄUMANN und RIETHMANN, 1938) für alle Versuche konstant auf 27 ° C gehalten. Diese Temperatur entspricht der in einem Vorversuch ermittelten optimalen Infektionstemperatur für *Fusarium lycopersici* Sacc.

b) Nährlösung

Die Tomate ist ein beliebtes Objekt für Ernährungsversuche, und dementsprechend werden viele Nährlösungen für Tomaten empfohlen. Außerdem ist die Tomate eine der wenigen Kulturpflanzen, die zu Erwerbszwecken oft in Wasserkultur gezogen wird. Für die hier geschilderten Versuche galt es, eine möglichst einfache, aber genau definierte Nährlösung zu finden, die

ein optimales Wachstum erlaubt, die aber auch auf einfache Weise zu variieren ist.

Die von KNOP (1860 und 1865) vorgeschlagene Nährlösung ergibt ein gutes Tomatenwachstum, wenn sie noch durch die erforderlichen Spurenelemente ergänzt wird. Das Verhältnis der Hauptnährstoffe in der KNOPschen Nährlösung ist für Tomaten ausgesprochen günstig. Diese Nährlösung kann aber nicht auf einfache Weise variiert werden, da das Kaliumphosphat zwei Hauptnährstoffe enthält. Eine einfache Variation der Nährlösung kann aber nur erfolgen, wenn jedes Salz nur einen Hauptnährstoff enthält. Es wurde daher eine der KNOPschen Lösung ähnliche Nährlösung auf ihre Eignung für Tomaten geprüft, mit der Zusammensetzung:

$Ca(NO_3)_2$	$4{,}2 \cdot 10^{-3}$ molar
$Ca(H_2PO_4)_2$	$0{,}5 \cdot 10^{-3}$ molar
KCl	$3{,}4 \cdot 10^{-3}$ molar
$MgSO_4$	$1{,}1 \cdot 10^{-3}$ molar
$Fe_2(SO_4)_3$	$5{,}0 \cdot 10^{-5}$ molar
HOAGLAND A—Z-Lösung	1 ml je Liter Nährlösung.

Diese Lösung erlaubt ein gutes Wachstum bis zur Fruchtreife, und auch die Samen von in dieser Lösung gezogenen Tomaten keimen auf befeuchteter Glaswolle wiederum normal aus.

Die Modifikationen gegenüber der KNOPschen Lösung bestehen:

1. Im Ersatz des Kaliumphosphates durch das primäre Kalziumphosphat, bei gleichzeitiger Erhöhung des Kaliumchloridgehaltes,

2. im Ersatz des Eisenphosphates durch das Ferrisulfat. Ferrisulfat erwies sich als geeignete Eisenquelle für Tomaten, obwohl das Ferriion mit dem Phosphat der Nährlösung das nur schwer lösliche Ferriphosphat bildet. Eisenmangel konnte während der ganzen Versuchszeit nie beobachtet werden. Eine einwandfreie Methode, das Eisen als Chelat zu geben, wie es STEWART und LEONARD (1952), JACOBSEN (1951), HECK und BALLEY (1950) empfehlen, kam für diese Versuche nicht in Frage, da Chelatbildner Welkewirksamkeit besitzen, die, wenn auch nicht ausreichend, für Nekrosen eventuell desensibilisierend wirken könnte. Ein derartiger Desensibilisierungseffekt konnte bei mehrmaligen Gaben von Lycomarasmin beobachtet werden (GÄUMANN und NAEF-ROTH, 1953).

Der Bedarf an Spurenelementen der Testpflanzen wurde durch den Zusatz von HOAGLANDscher A—Z-Lösung gedeckt (HOAGLAND und SNYDER, 1933).

Alle Salze wurden in durch Ionenaustauscher gereinigtem Wasser gelöst. Dieses gereinigte Wasser besaß eine elektrische Leitfähigkeit, die zwischen 1 und $2{,}5 \cdot 10^6$ Ohm/cm schwankte, und ein pH von 6,5 bis 6,8.

c) Pflanzenmaterial

Als Testpflanzen wurden Tomaten der Sorte Tuckswood verwendet, die nach KERN (1952) für *Fusarium lycopersici* Sacc. mittelanfällig ist. Diese

Tomatensorte wird am Institut für spezielle Botanik der ETH für alle Welkeversuche verwendet.

III. Statistische Methoden

Die statistische Auswertung der Versuche gestaltete sich sehr einfach. Es wurden nur die Mittel ( ) aus den (N) Pflanzen je Verfahren, die Standardabweichungen (s) und die Sicherung der Differenzen zwischen den Mittelwerten mit Hilfe der t-Werte berechnet. Die Formeln und die Tabelle der t-Werte finden sich bei LINDER (1951 und 1953). Als Verfahren wird in dieser Untersuchung nur diejenige Gruppe von Pflanzen bezeichnet, die auf dieselbe Art behandelt wurde: nur Pflanzen, die in ein und derselben Nährlösung gezogen und mit dem gleichen Toxin behandelt wurden.

In den Ausführungen über den Einfluß der Ernährung auf die Toxinempfindlichkeit bedeuten die Ausdrücke „gut" oder „deutlich gesichert" eine Sicherung von mehr als 0,01 und „gesichert" eine solche von 0,01 bis 0,05.

C. Welkeversuche

I. Der Einfluß der Konzentration der ausgeglichenen Nährlösung auf die Welketoxinempfindlichkeit der Tomatenpflanzen

1. Versuchsfrage: Welchen Einfluß übt die Konzentration der ausgeglichenen Nährlösung auf die Toxinempfindlichkeit aus?

2. Methode: Um die oben gestellte Frage zu beantworten, wurden fünf Konzentrationen der Nährlösung 1 x (siehe Abschnitt B, II) geprüft, nämlich 1/8 x, 1/4 x, 1 x, 4 x und 8 x. Vorversuche zeigten, daß die Pflanzen höhere Konzentrationen nicht ertragen und daß bei Konzentrationen unter 1/8 x das Wachstum nahezu ausbleibt. Die osmotischen Werte der fünf geprüften Nährlösungen liegen zwischen 0,07 und 4,6 atm. Die Bestimmung dieser Werte erfolgte zunächst durch Berechnung nach der Formel:

$$O = Sc \cdot T \cdot R$$

O = osmotischer Wert, T = absolute Temperatur,
S = Summationszeichen, R = Gaskonstante,
c = Ionenkonzentration der einzelnen Salze.

Dann wurden vergleichsweise die osmotischen Werte durch Kryoskopie bestimmt (BRAUNER, 1932). Die Berechnung nach der zitierten Formel gilt nur, wenn zwei Voraussetzungen erfüllt sind:

1. Relativ geringe Salzkonzentrationen,
2. totale Dissoziation.

Die durch Kryoskopie ermittelten Resultate stimmen mit den berechneten Ergebnissen im Rahmen des Meßfehlers überein.

Es gelingt nicht, auf einfache Weise die Wasserstoffionenkonzentration für die verschiedenen Verfahren und für längere Zeit auf eine bestimmte Höhe einzustellen. Durch Beifügung eines Puffers wird eine neue Unbekannte in das System aufgenommen, ohne aber die andere Unbekannte, das ungleiche pH, ganz zu eliminieren. Die Tomatenpflanze erträgt einen weiten

pH-Bereich in ihrer Nährlösung, und sie vermag große Unterschiede selbst auszugleichen.

Die Frage, ob nur die Salzkonzentration oder nur die Konzentration an Nährstoffen oder beide zusammen eine Rolle spielen, kann nicht mit einem einzigen Versuch geklärt werden. Durch ergänzende Zugaben von Natriumchlorid, wie dies Foster und Walker (1947) machten, oder von Kalziumchlorid, wie dies Cook (1937) versuchte, läßt sich die Frage nicht beantworten. Neue Versuche müßten dann vorerst klären, ob ein allfälliger Einfluß nur auf das Kochsalz bzw. Kalziumchlorid zurückzuführen ist oder auf die Nährlösung als solche. Außerdem kann das Natrium das Kalium bis zu einem gewissen Grade ersetzen. Versuche mit Nährlösungen enthalten immer Versuchsfehler. Die Fehler können nur von einem Gebiet auf ein anderes verschoben werden. Bei unseren Versuchen wurden bewußt zwei Einwände in Kauf genommen:

a) Der Einfluß der osmotischen Verhältnisse kann nicht vom Einfluß der Ernährung abgetrennt werden,

b) der Einfluß der Wasserstoffionen - Konzentration wird vernachlässigt.

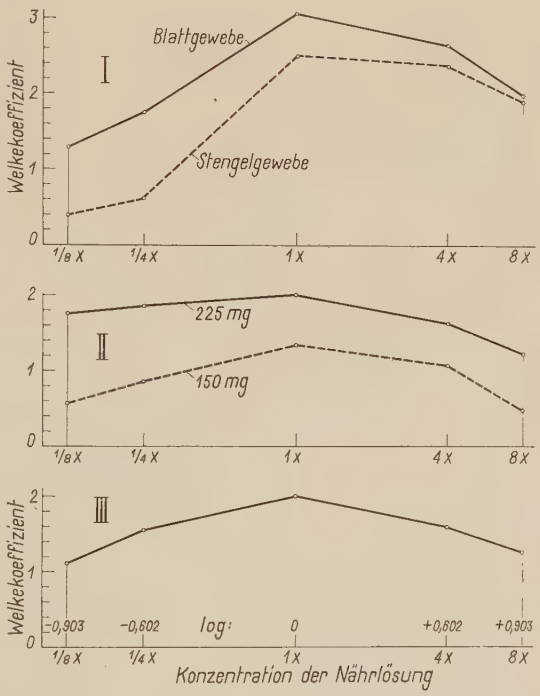


Abb. 1. Der Einfluß der Konzentration der ausgeglichenen Nährlösung auf die Toxinempfindlichkeit.
Kurve I. Welkeeffekt der Fusarinsäure in Abhängigkeit von der Nährlösungskonzentration.
Dosis 225 mg/kg; Konz. $5 \cdot 10^{-3}$ molar; pH 6,5.
Kurve II. Welkeeffekt des Lycomarasmins in Abhängigkeit von der Nährlösungskonzentration.
Dosis 150 mg/kg und 225 mg/kg;
Konz. $2{,}5 \cdot 10^{-3}$ molar; pH 6,5.
Kurve III. Welkeeffekt des Eisen-Lycomarasmin-Komplexes in Abhängigkeit von der Nährlösungskonzentration.
Dosis 60 mg/kg; Konz. $0{,}625 \cdot 10^{-3}$ molar; pH 6,5

3. Resultate: Vier Wochen nach der Auspflanzung waren deutliche Unterschiede zwischen den Pflanzen der einzelnen Nährlösungen zu erkennen. Die normal ernährten waren größer und kräftiger als die extrem ernährten. Die Mangelpflanzen waren leicht gelb, während sich die zu reichlich ernährten durch ein üppiges Grün und leicht verminderten Wuchs auszeichneten. Die Prüfung der Toxinempfindlichkeit dieser im Wuchs und Aussehen deutlich zu unterscheidenden Pflanzen ergab das in der Abb. 1 dargestellte Bild.

Tabelle 1

Der Einfluß der Konzentration der ausgeglichenen Nährlösung auf die Toxinempfindlichkeit

Toxine	Fusarinsäure		Lycomarasmin		Fe-Lycomarasmin
Konzentration	$5 \cdot 10^{-3}$		$2{,}5 \cdot 10^{-3}$		$0{,}625 \cdot 10^{-3}$
pH	6,5		6,5		6,5
Dosis	225 mg/kg		150 mg/kg	225 mg/kg	60 mg/kg
Schädigungen	Blatt	Stengel	Blatt	Blatt	Blatt
Nährlösungs-Konzentrationen					
1/8 ×	1,3 ± 0,47	0,4 ± 0,20	0,6 ± 0,21	1,8 ± 0,18	1,1 ± 0,15
1/4 ×	1,8 ± 0,52	0,6 ± 0,26	0,9 ± 0,15	1,9 ± 0,31	1,5 ± 0,25
1 ×	**3,1** ± 0,56	**2,5** ± 0,44	**1,4** ± 0,33	**2,0** ± 0,25	**2,0** ± 0,24
4 ×	2,7 ± 0,30	2,4 ± 0,80	1,1 ± 0,22	1,6 ± 0,20	1,6 ± 0,24
8 ×	2,0 ± 0,60	1,9 ± 0,58	0,5 ± 0,18	1,2 ± 0,42	1,3 ± 0,29

Einheitlich für alle Toxine ist die größte Empfindlichkeit der normal ernährten Pflanzen. Die Unterschiede gegenüber den Extremen sind in allen Fällen deutlich gesichert. Die größten Unterschiede ergaben die Versuche mit Fusarinsäure. Qualitative Tastversuche waren eher noch extremer ausgefallen, d. h. die Empfindlichkeit gegenüber der Fusarinsäure war bei den Mangelpflanzen nahezu Null geworden. Dieser für alle drei Toxine festgestellte Einfluß der Nährlösungskonzentration steht im Widerspruch mit den von GÄUMANN, NAEF-ROTH und MIESCHER (1950) publizierten Resultaten. Bei den damaligen Versuchen überdeckte der große Versuchsfehler die Unterschiede zwischen den Verfahren. Mit der inzwischen verbesserten Versuchsmethode konnte der Versuchsfehler stark verringert werden. Allerdings ließe sich, gestützt auf das Resultat eines einzelnen Versuches mit Lycomarasmin, auch bei der verbesserten Versuchsmethode kein sicherer Entscheid über den Einfluß der Ernährung auf die Toxinempfindlichkeit fällen. Statistisch gesicherte Unterschiede in der Toxinempfindlichkeit, die sich reproduzieren lassen und die für die drei geprüften Toxine in der gleichen Richtung verlaufen, gestatten aber die Aussage, daß die Konzentration der Nährlösung einen deutlichen Einfluß auf die Toxinempfindlichkeit der Testpflanzen ausübt.

Dieser Einfluß der Konzentration der Nährlösung stellt die Summe der Einflüsse verschiedener Faktoren dar. In Frage kommen die vier folgenden:

1. der osmotische Wert,
2. einzelne Hauptnährstoffe,
3. die Eisenversorgung,
4. die Spurenelemente.

Daß für den Einfluß der Konzentration der ausgeglichenen Nährlösung keine einfache lineare Kurve entsteht, macht es wahrscheinlich, daß mehr als ein Faktor maßgebend am Zustandekommen dieser Verschiebung der Empfindlichkeit beteiligt ist.

II. Der Einfluß der unausgeglichenen Nährlösungen auf die Welkegiftempfindlichkeit

1. Versuchsfrage: Sind einzelne Hauptnährstoffe für die im vorherigen Versuch festgestellten Einflüsse verantwortlich?

2. Methodisches: Die Nährlösungen mußten für diese Versuche so variiert werden, daß die Gesamtkonzentration gleich blieb und daß kein Ergänzungssalz erforderlich war.

Diesen beiden Bedingungen wird das von SHIVE (1915, 1918) entwickelte Nährlösungssystem gerecht. Er baute seine Lösungen auf drei Salzen auf: Kalziumnitrat, Kaliumphosphat und Magnesiumsulfat, das Eisen gab er separat zu. Der gesamte osmotische Wert dieser drei Salze kann als Dreiecksfläche betrachtet werden, wobei jeder Ecke ein Salz zukommt, Dreipunktlösung. SHIVE versuchte den optimalen osmotischen Wert zu bestimmen. Diesen Wert zerlegte er in sechs Teile und berechnete für jedes Salz die Konzentration, die einem Teilwert entspricht. Durch Verschiebung der Anzahl Teilwerte, die auf ein Salz entfallen, konnte er die Zusammensetzung der Nährlösungen variieren. Dabei änderte SHIVE weder den osmotischen Wert, noch nahm er ein Ergänzungssalz in sein Nährlösungssystem auf. Auf Grund dieses Prinzips wurde ein neues Nährlösungssytem aufgebaut:

Außer dem Eisen und den Spurenelementen wurde noch das Magnesiumsulfat konstant gehalten und für alle Lösungen gleich beigegeben. Variiert wurde zwischen Kalziumnitrat, Kaliumchlorid und Kalziumphosphat. Um innerhalb eines weiteren Rahmens variieren zu können, erfolgte die Teilung des osmotischen Wertes in 100 Teile. Der osmotische Wert der Nährlösung wurde für alle Versuche auf 0,573 atm berechnet, was dem osmotischen Wert der Nährlösung 1 x entspricht, die im vorigen Versuch die höchste Empfindlichkeit der Pflanzen für die Welketoxine ergab.

Auf das für alle Versuche gleich beizugebende Magnesiumsulfat entfallen 0,057 atm des gesamten osmotischen Wertes von 0,573 atm. Der osmotische Wert für die drei Hauptsalze $Ca(NO_3)_2$, KCl, $Ca(H_2PO_4)_2$ von 0,516 atm wird in 100 Teile zerlegt. Ein Teilwert entspricht einer Konzentration von $0{,}67 \cdot 10^{-3}$ molar $Ca(H_2PO_4)_2$, $0{,}67 \cdot 10^{-3}$ molar $Ca(NO_3)_2$ und $1{,}05 \cdot 10^{-3}$ molar KCl. Die normale Lösung 1 x enthält 60 Teilwerte Kalziumnitrat, 32,5 Teilwerte Kaliumchlorid und 7,5 Teilwerte Kalziummonophosphat.

Es wurden drei Reihen geprüft, die in der Abb. 2 als zu den Seiten parallele Linien erscheinen und die sich in der Lage der normalen Lösung 1 x schneiden.

Um zu den drei Reihen zu gelangen, wurde je ein Salz in normaler Konzentration gegeben und der verbleibende Restwert auf die beiden andern Salze verteilt. Die zwischen den beiden Extremen liegende Strecke wurde in fünf Teile zerlegt und so die Lage der sechs je Reihe geprüften Lösungen festgelegt.

Die Grenzen dieser Methode sind ohne weiteres aus der Abb. 2 zu erkennen. Für die Nährstoffe mit hohem Anteil an der gesamten Konzentration, also für Stickstoff und Kali, können die Mangellösungen gut geprüft werden, nicht aber die Überschußlösungen. Zum Beispiel kann der Stickstoffgehalt nicht verdoppelt werden, ohne die gesamte Konzentration der Nährlösung zu erhöhen. Für den Phosphor liegen die Verhältnisse umgekehrt, d. h. es können nur die Überschußlösungen genügend genau geprüft werden, nicht aber die Mangellösungen. Eventuell kann sich auch durch das Chlor-Ion, das mit dem Kalium mitvariiert wird, ein falsches Verhältnis ergeben, so daß ein scheinbarer Einfluß des Kaliums auf den Einfluß des Chlors zurückzuführen wäre.

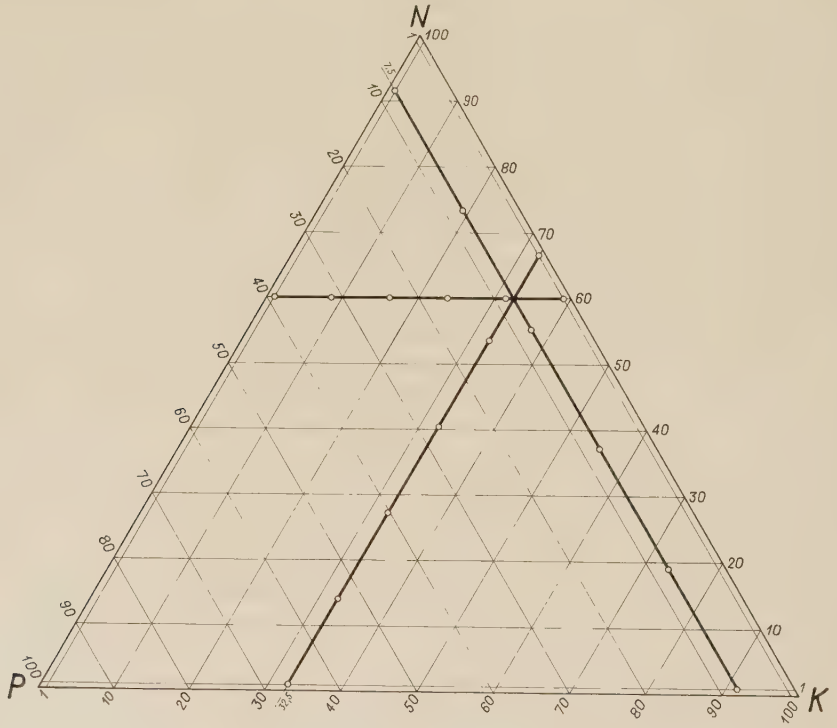


Abb. 2. Graphische Darstellung der Zusammensetzung der geprüften 18 Nährlösungen (Dreieckdarstellung)

3. Die Stickstoff-Kali-Reihe

a) Versuchsfrage: Welchen Einfluß übt das Stickstoff-Kali-Verhältnis auf die Toxinempfindlichkeit aus?

b) Methodisches: Von den Hundert osmotischen Einheiten der drei Hauptnährstoffe standen 92,5 für das Kalziumnitrat und das Kaliumchlorid zur Verfügung. Die anderen 7,5 Einheiten entfielen auf das Kalziumphosphat und mußten in dieser Reihe für alle Lösungen gleich gegeben

werden. Die Versuchsanlage geschah in der bereits geschilderten Weise. Vier Wochen nach der Auspflanzung wurde die Toxinempfindlichkeit geprüft.

c) Resultate: Einheitlich für die drei geprüften Toxine ist die Richtung der ernährungsbedingten Verschiebung der Welketoxinempfindlichkeit; verschieden ist nur das Ausmaß dieser Verschiebung. In der Abb. 3 sind die quantitativen Resultate zusammengestellt.

Fusarinsäureempfindlichkeit: Diese wird durch Stickstoffmangel, verbunden mit Kaliüberschuß, sehr stark vermindert. Die Stengelschädigungen sind bei Stickstoffmangel vollständig ausgeblieben. Die unteren drei

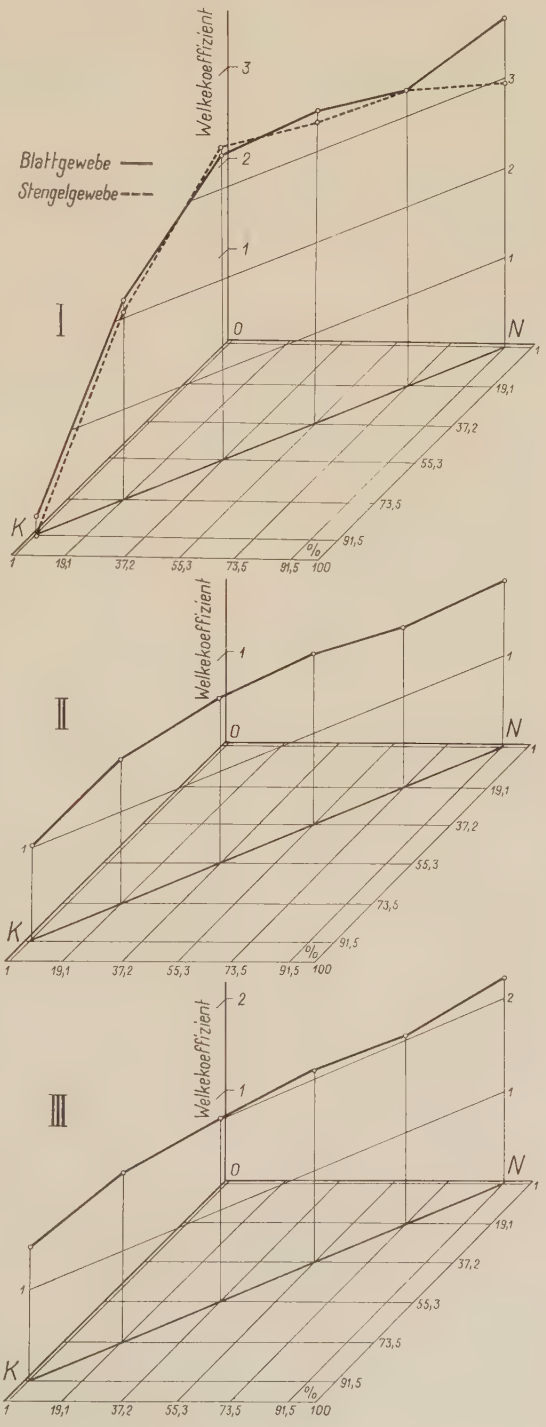


Abb. 3. Der Einfluß des Stickstoff-Kali-Verhältnisses auf die Welketoxinempfindlichkeit.

Kurve I. Welkeeffekt der Fusarinsäure in Abhängigkeit vom Stickstoff-Kali-Verhältnis. Dosis 225 mg kg; Konz. $5 \cdot 10^{-3}$ molar; pH 6,5.

Kurve II. Welkeeffekt des Lycomarasmins in Abhängigkeit vom Stickstoff-Kali-Verhältnis. Dosis 225 mg/kg; Konz. $2{,}5 \cdot 10^{-3}$ molar; pH 6,5.

Kurve III. Welkeeffekt des Eisen-Lycomarasmin-Komplexes in Abhängigkeit vom Stickstoff-Kali-Verhältnis. Dosis 60 mg/kg; Konz. $0{,}625 \cdot 10^{-3}$ molar; pH 6,5.

Tabelle 2

Der Einfluß des Stickstoff-Kali-Verhältnisses auf die Welketoxinempfindlichkeit

Toxine	Fusarinsäure		Lycomarasmin	Fe-Lycomarasmin
Konzentration	$5 \cdot 10^{-3}$		$2{,}5 \cdot 10^{-3}$	$0{,}625 \cdot 10^{-3}$
pH	6,5		6,5	6,5
Dosis	225 mg/kg		225 mg/kg	60 mg/kg
Schädigungen	Blatt	Stengel	Blatt	Blatt
Nährstoffverhältnis N : K				
1 : 91,5	0,2 ± 0,10	0 ± 0	1,0 ± 0,25	1,5 ± 0,25
19,1 : 73,4	2,3 ± 0,65	2,1 ± 0,69	1,6 ± 0,26	1,9 ± 0,45
57,2 : 55,3	3,4 ± 0,56	3,5 ± 0,62	1,8 ± 0,21	2,0 ± 0,34
35,3 : 37,2	3,5 ± 0,55	3,4 ± 0,78	1,9 ± 0,23	2,1 ± 0,41
73,4 : 19,1	3,3 ± 0,56	3,3 ± 0,61	1,8 ± 0,41	2,1 ± 0,40
91,5 : 1	3,7 ± 0,18	2,9 ± 0,86	1,8 ± 0,36	2,3 ± 0,29

Blätter der Testpflanzen dieses Verfahrens weisen gar keine Schädigungen auf. Leicht geschädigt ist nur das innerste Blatt. Nach MÜLLER (1949) wird bei Stickstoffmangel der noch zur Verfügung stehende Stickstoff in die jungen Blätter hinauftransportiert, so daß diese Blätter nur ein kleines Stickstoffdefizit aufweisen. Bemerkenswert ist, daß nur dieses innerste, noch normal grüne Blatt geschädigt wurde, während die unteren Blätter, die bereits leicht vergilbt waren, ohne Welkesymptome blieben. Mit zunehmender Stickstoffversorgung und abnehmender Kaliversorgung nimmt die Toxinempfindlichkeit zu. Die qualitative Ausprägung der Symptome ist aber in allen sechs Verfahren dieselbe.

Lycomarasminempfindlichkeit: Die Depression der Empfindlichkeit bei Stickstoffmangel und Kaliüberschuß ist bedeutend weniger ausgeprägt als bei der Fusarinsäure, aber dennoch statistisch gut gesichert. Während die Stickstoffmangel-Kaliüberschuß-Pflanzen und die Pflanzen der mittleren Verfahren die normalen Lycomarasminsymptome aufweisen, zeigen die Stickstoffüberschuß-Kalimangel-Pflanzen andere Schadbilder. Die Nekrosen sind vom Blattrand und der Blattspreite weg gegen das Blattinnere verschoben. Die Auswirkung der unterschiedlichen Ernährung zeigt sich beim Lycomarasmin mehr qualitativ als quantitativ.

Eisen-Lycomarasminempfindlichkeit: In quantitativer Hinsicht ist wiederum die kleine, aber deutlich gesicherte Depression bei Stickstoffmangel und Kailüberschuß zu erwähnen. Größer ist der qualitative Einfluß der Ernährung; die Schadbilder sind deutlich von Verfahren zu Verfahren verschieden. Die Stickstoffmangel-Pflanzen weisen an den unteren Blättern außer den normalen Eisen-Lycomarasminschäden noch braunviolette Verfärbungen der Blattnerven zweiter Ordnung auf (Abb. 4). Bei diesem Verfahren können die Schädigungen des Lycomarasmins gut von den Schädigungen des Eisen-Lycomarasmins unterschieden werden. Die normal ernährten Pflanzen zeigen die gewohnten Eisen-Lycomarasminsymptome

(Abb. 5). Im anderen Extrem, Kalimangel und Stickstoffüberschuß, sind die Schadbilder des Eisen-Lycomarasmins nicht von denjenigen des Lycomarasmins zu unterscheiden; sie entsprechen denjenigen der Abb. 6. Die Abb. 4, 5 und 6 sind ein Beispiel einer ernährungsbedingten Verschiebung der Symptome einer Welketoxinvergiftung.

Werden die Nekrosen des Eisen-Lycomarasmins ohne die Verfärbungen der Blattnerven zweiter Ordnung bei den Stickstoffmangel-Kaliüberschuß-Pflanzen beurteilt, so ergibt sich in bezug auf den Kurvenverlauf das gleiche Bild wie für das Lycomarasmin.

4. Die Stickstoff-Phosphor-Reihe

a) Versuchsfrage: Welchen Einfluß übt das Stickstoff-Phosphor-Verhältnis auf die Toxinempfindlichkeit aus?

b) Methodisches: Für Stickstoff und Phosphor standen 67,5 Teile zur Verfügung, die restlichen 32,5 Teile entfielen auf das Kaliumchlorid und waren konstant zu halten. Auspflanzung, Wartung und Test blieben sich gleich wie in früheren Versuchen.

c) Resultate: Die Abb. 7 gibt die quantitativen Schädigungen wieder.

Fusarinsäureempfindlichkeit: Sehr stark tritt die Verminderung der Empfindlichkeit bei Stickstoffmangel und Phosphorüberschuß hervor. Wiederum weisen nur die obersten Blätter bei Stickstoffmangel leichte Schädigungen auf. Im Bereich der normalen Ernährung ist die Fusarinsäureempfindlichkeit am größten. Bei Stickstoffüberschuß und Phosphormangel ist eine geringe, nicht gesicherte Verminderung der Empfindlichkeit festzustellen.

Tabelle 3

Der Einfluß des Stickstoff-Phosphor-Verhältnisses auf die Welkeempfindlichkeit

Toxine	Fusarinsäure		Lycomarasmin	Fe-Lycomarasmin
Konzentration	$5 \cdot 10^{-3}$ molar		$2{,}5 \cdot 10^{-3}$ molar	$0{,}625 \cdot 10^{-3}$ molar
pH	6,5		6,5	6,5
Dosis	225 mg/kg		225 mg/kg	60 mg/kg
Schädigungen	Blatt	Stengel	Blatt	Blatt
Nährstoffverhältnis N : P				
1 : 66,5	0,7 ± 0,37	0 ± 0	1,0 ± 0,20	1,0 ± 0,20
14,1 : 53,4	1,1 ± 0,31	0,6 ± 0,24	1,8 ± 0,33	1,2 ± 0,07
27,2 : 40,3	3,6 ± 0,20	3,4 ± 0,51	1,9 ± 0,25	1,4 ± 0,15
40,3 : 27,2	3,8 ± 0,18	3,2 ± 0,61	1,8 ± 0,25	1,5 ± 0,16
53,4 : 14,1	3,8 ± 0,26	3,4 ± 0,39	2,0 ± 0,16	1,9 ± 0,25
66,5 : 1	3,5 ± 0,27	1,9 ± 0,89	2,3 ± 0,20	2,1 ± 0,23

Lycomarasminempfindlichkeit: Mit zunehmender Stickstoffversorgung und abnehmender Phosphorzufuhr nimmt die Empfindlich-

keit gegen das Lycomarasmin zu. Die qualitative Ausprägung der Symptome ist aber in dieser Versuchsreihe beim Lycomarasmin in allen sechs Verfahren dieselbe.

Zu S. 64:

oben links

Abb. 4. Welkesymptome des Eisen-Lycomarasmins bei Stickstoffmangel und Kaliüberschuß. Dosis 60 mg/kg; Maßstab 1,3 : 1.

oben rechts

Abb. 5. Welkesymptome des Eisen-Lycomarasmins bei einer normal ernährten Pflanze. Dosis 60 mg/kg; nat. Größe.

unten

Abb. 6. Welkesymptome des Eisen-Lycomarasmins bei Stickstoffüberschuß und Kalimangel. Dosis 60 mg/kg; Maßstab 3 : 1.

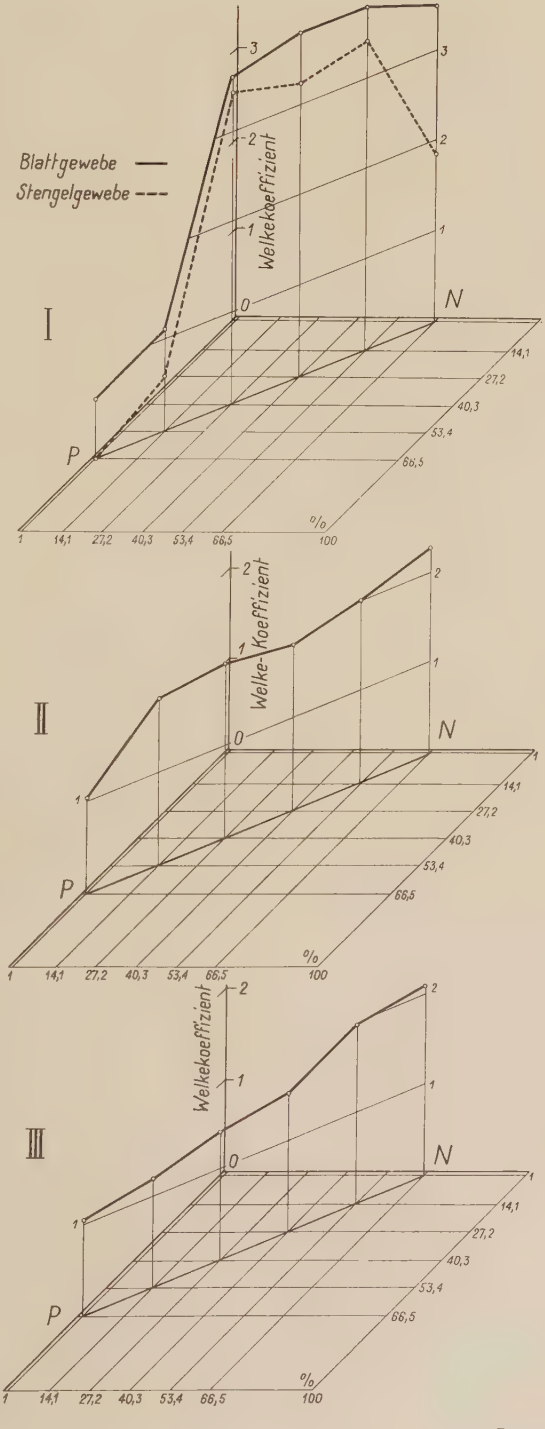
Zu S. 65

Abb. 7. Der Einfluß des Stickstoff-Phosphor-Verhältnisses auf die Empfindlichkeit für Welketoxine.

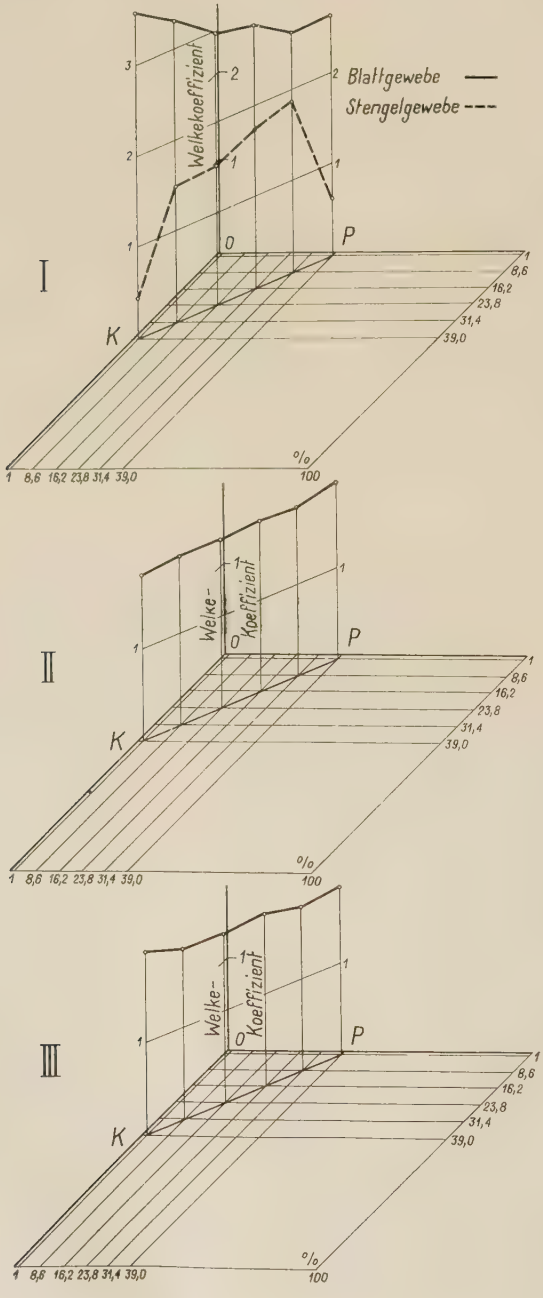
Kurve I. Welkeeffekt der Fusarinsäure in Abhängigkeit vom Stickstoff-Phosphor-Verhältnis. Dosis 225 mg/kg; Konz. $5 \cdot 10^{-3}$ molar; pH 6,5.

Kurve II. Welkeeffekt des Lycomarasmins in Abhängigkeit vom Stickstoff - Phosphor - Verhältnis. Dosis 225 mg/kg; Konz. $2{,}5 \cdot 10^{-3}$ molar; pH 6,5.

Kurve III. Welkeeffekt des Eisen-Lycomarasmins in Abhängigkeit vom Stickstoff-Phosphor-Verhältnis. Dosis 60 mg/kg; Konz. $0{,}625 \cdot 10^{-3}$ molar; pH 6,5.



Eisen-Lycomarasminempfindlichkeit: Gleich wie bei den zwei bereits genannten Toxinen ist die zunehmende Empfindlichkeit mit zunehmender Stickstoffversorgung. Die Zunahme von einem Extrem zum andern ist statistisch deutlich gesichert. Analog der vorherigen Versuchsreihe treten bei Stickstoffmangel die braun-violetten Verfärbungen der Blattnerven zweiter Ordnung auf. In den anderen Verfahren dieser Versuchsreihe entsprechen die Symptome den gewohnten Vergiftungserscheinungen von Eisen-Lycomarasmin, wie sie Abb. 5 zeigt.



5. Die Phosphor-Kali-Reihe

a) Versuchsfrage: Wie beeinflußt das Kali-Phosphorverhältnis die Toxinempfindlichkeit?

b) Methodisches: Für Kalium und Phosphor standen 40 Teilwerte zur Verfügung, die restlichen 60 Teilwerte entfielen auf den Stick-

Abb. 8. Der Einfluß des Kali-Phosphor-Verhältnisses auf die Welkegiftempfindlichkeit.

Kurve I. Welkeeffekt der Fusarinsäure in Abhängigkeit vom Kali-Phosphor-Verhältnis. Dosis 225 mg/kg; Konz. $5 \cdot 10^{-3}$ molar; pH 6,5.

Kurve II. Welkeeffekt des Lycomarasmins in Abhängigkeit vom Kali-Phosphor-Verhältnis. Dosis 225 mg/kg; Konz. $2{,}5 \cdot 10^{-3}$ molar; pH 6,5.

Kurve III. Welkeeffekt des Eisen-Lycomarasmins in Abhängigkeit vom Kali-Phosphor-Verhältnis. Dosis 60 mg/kg; Konz. $0{,}625 \cdot 10^{-3}$ molar; pH 6,5.

stoff und waren in dieser Reihe konstant zu halten. Versuchsanordnung und Versuchsauswertung blieben sich gleich wie in den vorherigen Versuchen.

c) Resultate: Die Unterschiede im Wuchs und Aussehen zwischen den Verfahren sind ausgeprägt und mindestens ebenso groß wie in den beiden vorstehend geschilderten Versuchen. Die quantitativen Ergebnisse sind in Abb. 8 und Tabelle 4 zusammengestellt.

Tabelle 4

Der Einfluß des Kali-Phosphor-Verhältnisses auf die Empfindlichkeit für Welketoxine

Toxine	Fusarinsäure		Lycomarasmin	Fe-Lycomarasmin
Konzentration	$5 \cdot 10^{-3}$ molar		$2{,}5 \cdot 10^{-3}$ molar	$0{,}625 \cdot 10^{-3}$ molar
pH	6,5		6.5	6,5
Dosis	225 mg/kg		225 mg/kg	60 mg/kg
Schädigungen	Blatt	Stengel	Blatt	Blatt
Nährstoffverhältnis P : K				
1 : 39	3,6 ± 0,19	0,5 ± 0,32	1,9 ± 0,19	1,8 ± 0,29
8,6 : 31,4	3,4 ± 0,10	1,5 ± 0,85	1,9 ± 0,30	1,9 ± 0,17
16,2 : 23,8	3,0 ± 0,35	1,5 ± 0,83	1,9 ± 0,20	1,8 ± 0,20
23.8 : 16,2	2,9 ± 0,45	1,8 ± 0,85	1,9 ± 0,14	1,9 ± 0,24
31,4 : 8,6	2,6 ± 0,49	1,9 ± 0,94	1,8 ± 0,23	1,9 ± 0,30
39 : 1	2,6 ± 0,34	0,6 ± 0,30	1,8 ± 0,16	1,9 ± 0,40

Fusarinsäureempfindlichkeit: Während die beiden ersten Reihen in bezug auf die Fusarinsäureempfindlichkeit deutlich eine bestimmte Richtung im Kurvenverlauf erkennen lassen, ist dies in dieser Versuchsreihe nicht der Fall. Die erhöhte Schädigung der Blätter bei Phosphormangel und Kaliüberschuß wird durch die geringere Schädigung der Stengel kompensiert. Die Verhältnisse sind sehr unklar, und die Unterschiede sind gegenüber jenen der ersten beiden Versuchsreihen klein.

Lycomarasmin- und Eisen-Lycomarasminempfindlichkeit: Bei sehr kleinen Streuungen innerhalb der Verfahren sind keine Unterschiede zwischen den Verfahren festzustellen. Die quantitative und qualitative Ausprägung der Symptome war in allen Verfahren dieselbe.

Für alle drei Toxine kann ausgesagt werden, daß das Kali-Phosphor-Verhältnis keinen Einfluß auf die Toxinempfindlichkeit ausübt, der die methodischen Fehler überwiegen würde.

6. Die Zusammenstellung der Ergebnisse der drei Versuchsreihen

Die drei Versuchsreihen wurden unter vergleichbaren Verhältnissen durchgeführt. Um die Ergebnisse für die einzelnen Nährstoffe zu erhalten, müssen die Resultate der drei Reihen miteinander in Beziehung gebracht werden. Dies kann einerseits durch eine einfache rechnerische Überlegung geschehen.

Variation N : K Verhältnis → g r o ß e Unterschiede in der Empfindlichkeit,
Variation N : P Verhältnis → g r o ß e Unterschiede in der Empfindlichkeit,
Variation P : K Verhältnis → k e i n e Unterschiede in der Empfindlichkeit.

Daraus ergibt sich, daß dem Stickstoff die Hauptbedeutung für die ernährungsphysiologisch bedingte Verschiebung der Welketoxinempfindlichkeit der Tomaten zukommt.

Anderseits stehen die drei Versuchsreihen durch das Dreipunktverfahren miteinander in Beziehung. In Abb. 9 sind die Resultate für die Fusarinsäure zusammengestellt. Die Grundfläche dieser Figur entspricht dem Dreieck aus Abb. 2. In der vertikalen Ausdehnung wurde der Welkeeffekt der Fusarinsäure aufgetragen. Eindeutig geht aus dieser Figur hervor, daß dem Stickstoff die größte Bedeutung für die Welkegiftempfindlichkeit zukommt.

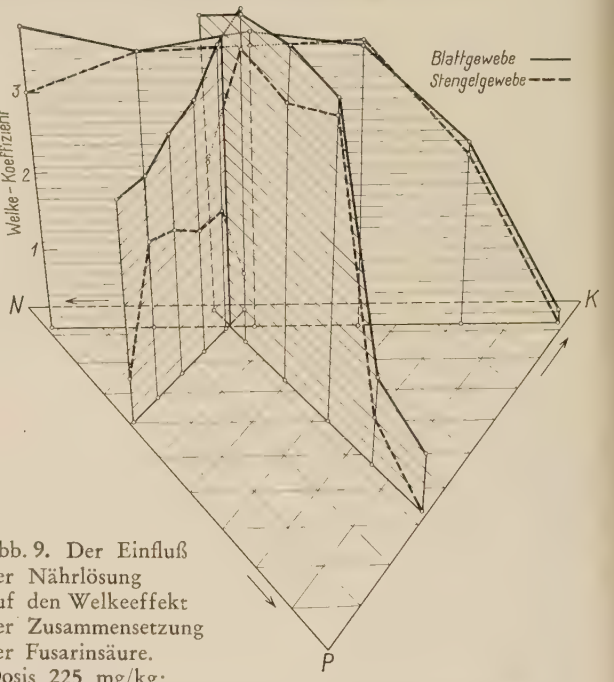


Abb. 9. Der Einfluß der Nährlösung auf den Welkeeffekt der Zusammensetzung der Fusarinsäure. Dosis 225 mg/kg; Konz. $5 \cdot 10^{-3}$ molar; pH 6,5. (Erklärung im Text)

Stickstoffmangel setzt bei Kali- und bei Phophorüberschuß die Welketoxinempfindlichkeit herab. In den ersten Versuchen (Einfluß der Nährlösungskonzentration auf die Welkegiftempfindlichkeit) ist das Absinken der Empfindlichkeit ebenfalls auf den Stickstoffmangel zurückzuführen; die Depression in den stark verdünnten Lösungen jener Versuche entspricht der Depression, die mit einer reinen Herabsetzung des Stickstoffes bei normaler Konzentration der anderen Salze zu erreichen ist.

Die Einflüsse der anderen Nährstoffe sind wenig eindeutig und statistisch nicht gesichert. Überraschend im Versuch mit Fusarinsäure ist das Ausmaß des Stickstoffeinflusses, der von der Resistenz bei Stickstoffmangel bis zur höchsten Empfindlichkeit bei normaler Ernährung wächst. Die Lycomarasminempfindlichkeit kann durch die Ernährung nicht so leicht verschoben werden, die Richtung der Verschiebung ist aber dieselbe, nur das Ausmaß der Verschiebung ist geringer.

Durch diese drei Versuchsreihen konnte der Einfluß von starken Überschußlösungen von Stickstoff und Kali nicht geprüft werden. Es ist die Aufgabe der folgenden Versuche, diese Lücke zu schließen, und zugleich auch, die Ergebnisse dieser Versuchsreihe zu bestätigen.

III. Der Einfluß einzelner Nährstoffe in hohen Konzentrationen auf die Welkegiftempfindlichkeit

Die bis dahin geschilderten Versuche zeigen den Einfluß der Konzentration der Nährlösung und den Einfluß des Nährstoffverhältnisses bei gleicher Konzentration. Zu einem abgerundeten Bild über den Ernährungseinfluß auf die Welkegiftempfindlichkeit fehlen noch die Untersuchungen über den Einfluß einzelner Nährstoffe in hohen Konzentrationen. Dies soll in den folgenden Versuchen nachgeholt werden. Zugleich werden diese Versuche zeigen, daß tatsächlich nur dem Stickstoff ein überragender Einfluß auf die Welkegiftempfindlichkeit zukommt. In diesen Versuchen wurde auf die Konstanthaltung der Ionenkonzentration verzichtet, und die einzelnen Salze wurden ohne Rücksicht auf den resultierenden osmotischen Wert variiert. Die extremen Salzkonzentrationen wurden möglichst weit von den normalen Konzentrationen entfernt gewählt, selbst auf das Risiko hin, daß unbiologische Verhältnisse entstanden.

1. Die Stickstoff-Reihe

Für Stickstoff gelangten die Konzentrationen $^1/_{100}$, $^1/_{10}$, 1 und 10 N, bezogen auf den Stickstoffgehalt der Nährlösung 1 x, zur Prüfung. Die übrigen Nährstoffe wurden in normaler Konzentration gegeben. Eine 20fache Stickstoffmenge wurde von den Pflanzen nicht mehr ertragen. Die Resultate aus den Versuchen mit Fusarinsäure und Lycomarasmin sind in Abb. 10 zusammengestellt. Zu beachten ist, daß diese Versuche im Herbst angelegt wurden und sich bereits ein schwacher Lichtmangel bemerkbar machte, der die Ernährungseinflüsse etwas verwischte. In diesen Versuchen wurden trotz der über der Dosis minima liegenden Toxindosis nicht mehr die gleich hohen Schädigungen erreicht, wie dies in den im Sommer angelegten Versuchen der Fall war. Diese für alle Verfahren gleich wirksame Abschwächung ist sehr wahrscheinlich auf den Lichtmangel zurückzuführen.

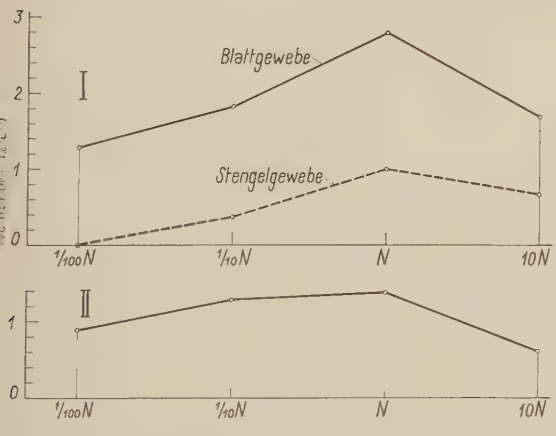


Abb. 10. Der Einfluß steigender Stickstoffgaben auf den Welkeeffekt der Fusarinsäure und des Lycomarasmins
Kurve I. Fusarinsäure
Kurve II. Lycomarasmin
Dosis je 225 mg/kg; pH 6,5.

Die erwartete Verminderung der Toxinempfindlichkeit bei Stickstoffmangel ist wiederum eingetreten. Neu ist das leichte Absinken bei starker Stickstoffüberernährung. Die gesamte Salzkonzentration bei zehnfacher Stickstoffüberernährung liegt im gleichen Bereich wie bei der achtfachen allgemeinen Überernährung (siehe Versuch Abschnitt C I).

2. Die Kali-Reihe

Die Kaligaben schwankten zwischen 1/10- und 20facher Menge der normalen Kaligaben der Nährlösung 1 x. Alle übrigen Nährstoffe wurden in dieser Reihe in normaler Dosis verabreicht.

Die Resultate sind in bezug auf die Fusarinsäure wenig deutlich, der starke Abfall in den Schädigungen der Blätter bei zunehmender Kalikonzentration wird durch die Zunahme der Stengelschädigungen weitgehend ausgeglichen.

Beim Lycomarasmin sinkt die Empfindlichkeit bei starkem Kaliüberschuß deutlich und gut gesichert. Kalimangel zeigt, wie in den früheren Versuchen, keinen gesicherten Einfluß auf die Toxinempfindlichkeit. Bei den höchsten Kalikonzentrationen ist wiederum die gleiche Salzkonzentration erreicht wie bei der allgemeinen achtfachen Überernährung.

Die Abschwächung der Toxinempfindlichkeit bei Überernährung erfolgt einerseits bei allgemeiner Überernährung, anderseits auch bei starkem Stickstoff- und Kaliüberschuß, in allen Fällen aber erst nach der Überschreitung einer bestimmten Salzkonzentration. Es muß daher angenommen werden, daß die durch Überernährung hervorgerufene Depression auf den Einfluß hoher Salzkonzentrationen zurückzuführen ist.

3. Die Phosphor-Reihe

Die Phosphorversorgung übt keinen meßbaren Einfluß auf die Toxinempfindlichkeit aus, weder bei der Fusarinsäure (Abb. 11) noch bei Lycomarasmin. Die an den Pflanzen nach vierwöchiger Kultur feststellbaren Unterschiede sind auch in der Phosphorreihe sehr ausgeprägt. Phosphorüberernährung wirkt sich in einem leichten Zurückbleiben im Wuchs aus. Die Pflanzen ertragen aber beim Phosphor nicht so hohe Konzentrationen wie beim Stickstoff und beim Kali. Die hohe Salzkonzentration, wie sie im ersten Hauptversuch bei achtfacher allgemeiner Überernährung geprüft wurde, kann nicht durch alleinige Erhöhung des Phosphoranteiles der Nährlösung erreicht werden. Damit bleibt in dieser Reihe auch die Depression für die Überschußlösungen aus.

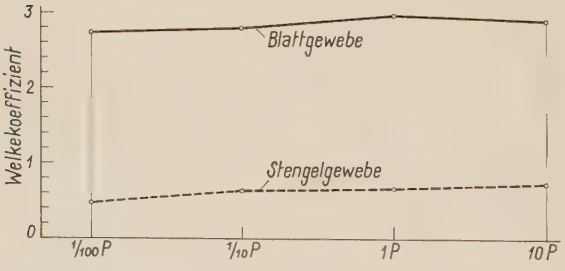


Abb. 11. Der Einfluß steigender Phosporgaben auf den Welkeeffekt der Fusarinsäure
Dosis 225 mg/kg; pH 6,5

Die Phosphormangelpflanzen weisen blau-violett verfärbte Stengelspitzen auf und besitzen einen auffallend steifen Wuchs, ohne aber eine verschiedene Welketoxinempfindlichkeit zu zeigen.

IV. Über die Beziehungen zwischen Toxinresistenz und Erkrankungsdisposition

Festzuhalten bleibt noch die Beziehung zwischen ernährungsphysiologisch gesteuerter unterschiedlicher Toxinresistenz und ernährungsbedingter unterschiedlicher Erkrankungsdisposition. Dies muß an Hand der in der Literatur aufgeführten Ergebnisse getan werden. Dabei ist zu berücksichtigen, daß die verschiedenen Autoren mit verschiedenen Tomatensorten, mit verschiedenen Erregerstämmen und mit verschiedenen Nährlösungen gearbeitet haben, was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse stark vermindert. Durch die Differenzierung in prä- und postinfektionellen Einfluß der Ernährung werden die Ergebnisse unklar, da zwischen der Infektion und dem Ausbruch der Erkrankung rund 14 Tage verstreichen. Während dieser Zeit kann sich zum Beispiel ein präinfektioneller Mangel an einem der Hauptnährstoffe weitgehend ausgleichen. Zum Vergleich mit den Ergebnissen in bezug auf die Toxinresistenz kommen nur die Untersuchungen in Frage, die prä- und postinfektionell mit denselben Nährlösungen ausgeführt wurden.

Stoddard und Dimond (1948) prüften den Einfluß der Nährlösungskonzentration auf die Infektionsanfälligkeit und auf den Krankheitsindex. Sie führten ihre Versuche ohne Verwendung eines Ergänzungssalzes durch, und sie prüften einen ähnlichen Konzentrationsbereich, wie er in dieser Arbeit im ersten Versuch geschildert wurde. Die Infektonsanfälligkeit wird durch anormale Ernährung herabgesetzt: normal ernährte Pflanzen wurden zu 95 % infiziert, unterernährte bei 1/10 x zu 40 % und überernährte bei 10 x nur zu 5 %. Parallel dazu verläuft, nach den Ergebnissen von Stoddard und Dimond, der Ernährungseinfluß auf die Stärke der Erkrankung: die normal ernährten Pflanzen werden nicht nur am leichtesten infiziert, sondern sie erkranken auch am stärksten.

Der Einfluß der Nährlösungskonzentration auf die Erkrankungsdisposition scheint sich in diesem Falle mit dem Einfluß der Ernährung auf die Toxinresistenz zu decken. Mindestens werden diese beiden Größen durch die Ernährung in gleichem Sinne und in ähnlichem Ausmaß verschoben.

Die Resultate von Walker und Foster (1946) widersprechen scheinbar jenen von Stoddard und Dimond (1948), doch sind die beiden Arbeiten nur beschränkt miteinander vergleichbar. Walker und Foster (1946) stellten in ihren Versuchen die totale Salzkonzentration für alle Verfahren auf die gleiche Höhe ein. Als Ergänzungssalz verwendeten sie Natriumchlorid. Sie unterließen es aber, eine Untersuchung über den Einfluß steigender Natriumchloridgaben auf die Krankheitsbereitschaft vorzunehmen. — Der Vergleich der Ergebnisse von Stoddard und Dimond (1948) (ohne Ergänzungssalz) mit den Resultaten von Walker und Foster (1946) (mit Natriumchlorid als Ergänzungssalz) macht aber das Vorhandensein eines derartigen Einflusses wahrscheinlich.

Walker und Foster (1946) legten auch Versuche zur Klärung der Einflüsse einzelner Hauptnährstoffe auf die Krankheitsbereitschaft an. Sie zeigten, daß bei prä- und postinfektioneller Stickstoffunterernährung der Krankheitsindex stark sinkt. Zum Beispiel betrug er 22 Tage nach der In-

fektion bei reichlicher Stickstoffversorgung (3 N) 93 und bei Stickstoffmangel ($^1/_{10}$ N) nur 46. Als Testpflanzen verwendeten sie Tomaten der Sorte Bonny Best. In ihren Versuchen wirkte sich Kalimangel gleich aus wie Stickstoffüberschuß und Kaliüberschuß gleich wie Stickstoffmangel. Da auch diese Versuche mit Natriumchlorid als Ergänzungssalz ausgeführt wurden, sind die Ergebnisse nur beschränkt und unter Vorbehalt mit den Ergebnissen dieser Untersuchung vergleichbar.

Die Resultate von WALKER und FOSTER (1946) in bezug auf den Einfluß des Stickstoffs und des Kaliums auf die Krankheitsbereitschaft stimmen mit den allgemeinen Erfahrungen der Praxis überein; ROEMER, FUCHS und ISENBECK (1938) formulierten sie dahin, daß Stickstoffmangel und Kaliüberschuß den Ausbau der Resistenzfaktoren erhöhen.

Die Beeinflussung des Krankheitsindexes durch die Ernährung erfolgt in der gleichen Richtung wie die Beeinflussung der Toxinempfindlichkeit. Diese Parallelität der Verschiebung kann einerseits bei allgemeiner Über- und allgemeiner Unterernährung festgestellt werden, anderseits auch in bezug auf den Einfluß des Stickstoffmangels. Die Phosphorversorgung übt weder auf die Krankheitsbereitschaft noch auf die Toxinresistenz der Testpflanzen einen nachweisbaren Einfluß aus. Nicht nachweisbar ist an Hand dieser Literaturangaben die Parallelität der Verschiebung bei variierter Kaliversorgung. Um eine endgültige Aussage machen zu können, wäre es notwendig, vergleichbare Infektionsversuche anzustellen. Die Vermutung liegt aber nahe, daß die unterschiedliche Krankheitsanfälligkeit der verschieden ernährten Tomatenpflanzen auf einer ernährungsphysiologisch gesteuerten unterschiedlichen Empfindlichkeit für die Toxine des Erregers beruht.

D. Physiologische Untersuchungen zur Fusarinsäureresistenz der Stickstoffmangel-Pflanzen

I. Fragestellung

Die vorstehenden Versuche haben gezeigt, daß Stickstoffmangel die Empfindlichkeit der Testpflanzen für die Fusarinsäure stark vermindert. Diese Feststellung wurde bei Welkeversuchen gemacht. Beim Welketest wird als Maß der Empfindlichkeit das verschieden starke Auftreten von Nekrosen verwendet. Eine Nekrose ist aber erst das letzte Glied einer wahrscheinlich langen Kette von anormal ablaufenden Lebensvorgängen. Eine Resistenz oder eine zum mindesten stark verminderte Empfindlichkeit ist an verschiedenen Gliedern dieser nur teilweise bekannten Kette denkbar. Die Resistenz kann zum Beispiel schon am ersten Glied, der Aufnahme des Toxins, oder auch erst an einem der letzten Glieder einsetzen — in beiden Fällen wird die Nekrosebildung ausbleiben. Es soll nun in den folgenden Kapiteln versucht werden, festzulegen, an welchen Punkten die Resistenz einsetzt.

Obwohl eine größere Anzahl von Arbeiten über den Einfluß von Stickstoffmangel auf den Stoffwechsel existiert (MÜLLER und LARSON, 1935; MÜLLER, 1932, 1949; DENFFER, 1940; BURSTRÖM, 1945), ist auf Grund der

in der Literatur festgehaltenen Tatsachen keine Antwort auf die vorstehend gestellte Frage zu geben.

Alle folgenden Versuche wurden mit Tomatenpflanzen der Sorte Tuckswood gemacht, die in den nachstehend angeführten Nährlösungen angezogen wurden.

Tabelle 5

Nährlösungen für die physiologischen Untersuchungen

Salz	normal ernährte Pflanzen	Stickstoffmangel-Pflanzen
$Ca(NO_3)_2$	$4{,}2 \cdot 10^{-3}$ molar	$0{,}2 \cdot 10^{-3}$ molar
$Ca(H_2PO_4)_2$	$0{,}5 \cdot 10^{-3}$ molar	$0{,}5 \cdot 10^{-3}$ molar
KCl	$3{,}4 \cdot 10^{-3}$ molar	$3{,}4 \cdot 10^{-3}$ molar
$MgSO_4$	$1{,}1 \cdot 10^{-3}$ molar	$1{,}1 \cdot 10^{-3}$ molar
$Fe_2(SO_4)_3$	$5 \cdot 10^{-5}$ molar	$5 \cdot 10^{-5}$ molar
Hoagland A-Z-Lösung	1 ml je l	1 ml je l

II. Passageversuche mit Fusarinsäure

Eine Möglichkeit für das Einsetzen der Resistenz besteht darin, daß Stickstoffmangel-Pflanzen die Fusarinsäure im Stengel inaktivieren, so daß sie gar nicht oder nicht als aktive Substanz in die Blätter und in die oberen Stengelpartien gelangen kann. Um diese Frage zu prüfen, wurde Fusarinsäure ($5 \cdot 10^{-3}$ molar, pH 6,5) mit Druck (0,2 atü) durch Stengelstücke gepreßt. Die heraustretende Flüssigkeit wurde im *Ustilago*-Sporenkeimungstest (Kobel, 1951) auf Fusarinsäure geprüft. Durch Stengel gepreßtes Leitungswasser besitzt keine *Ustilago*-Aktivität. Die Resultate für die Fusarinsäure schwanken bei Stengeln von normal ernährten Pflanzen sehr stark, die Aktivität der austretenden Toxinlösung ist bei diesen Stengeln immer bedeutend geringer. Der zurückbleibende Teil ist abhängig von der Stengellänge, vom Druck und von der Durchlaufzeit. Werden Stengel normal ernährter Pflanzen nach den Passageversuchen mit Fusarinsäure 48 Stunden in feuchter Atmosphäre aufbewahrt, so fallen sie genau wie bei gewöhnlichen Welkeversuchen zusammen.

In den Stengeln der Stickstoffmangel-Pflanzen bleibt nur sehr wenig oder gar keine Fusarinsäure zurück; auf alle Fälle ist der Prozentsatz an inaktivierter bzw. zurückbehaltener Fusarinsäure bedeutend geringer im Vergleich mit den Stengeln normal ernährter Pflanzen. Die zahlenmäßigen Versuchsresultate sind aber wenig ausgeglichen. Als Beispiel seien die Resultate eines einzelnen Versuches herausgegriffen (Tab. 6).

Tabelle 6

Beispiel eines Passageversuches mit Fusarinsäure

Stengel	Stengellänge	*Ustilago*-Aktivität der austretenden Flüssigkeit	Rückbehalt in %
normal ernährt	10 cm	17 *Ustilago*-Einheiten	43 %
	20 cm	13 *Ustilago*-Einheiten	57 %
Stickstoffmangel	10 cm	29 *Ustilago*-Einheiten	3 %
	20 cm	30 *Ustilago*-Einheiten	0 %

Die Ausgangslösung enthielt 30 *Ustilago*-Einheiten.

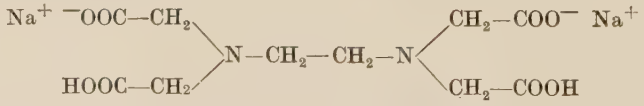
Diese Ergebnisse zeigen deutlich, daß die Fusarinsäure in den Stengeln von Stickstoffmangel-Pflanzen nicht zurückbehalten und auch nicht inaktiviert wird. Die Stengel von Stickstoffmangel-Pflanzen weisen auch 48 Stunden nach den Passageversuchen mit Fusarinsäure keine äußerlich feststellbaren Schädigungen auf.

III. Welkeversuche mit der Modellsubstanz Komplexon III

Ein Teil der schädigenden Wirkung der Fusarinsäure beruht wahrscheinlich auf ihrem Chelierungsvermögen, indem sie zum Beispiel aus den Fermenten die katalytisch wirkenden Schwermetalle entfernt oder austauscht (DEUEL, 1954). Zudem bewirkt die Fusarinsäure eine Störung der osmotischen Verhältnisse der Zellen (GÄUMANN, NAEF-ROTH, REUSSER und AMMANN, 1952). Wie weit diese Permeabilitätsschädigung ebenfalls auf das Chelierungsvermögen zurückgeführt werden kann, ist noch nicht geklärt. Modellversuche mit Komplexon III (GÄUMANN und NAEF-ROTH, 1954) haben gezeigt, daß das Chelierungsvermögen am Zustandekommen der Nekrosen mitverantwortlich ist.

Aus dem vorherigen Versuch geht hervor, daß die Fusarinsäure auch bei den Stickstoffmangel-Pflanzen bis in die oberen Partien gelangen kann. So drängte sich die Frage auf, ob die Resistenz der Stickstoffmangel-Pflanzen gegen die Fusarinsäure nicht auf einem größeren Widerstand gegen die Chelierung beruhen könnte. Ist dies der Fall, so müssen sich bei einem Test mit einer Modellsubstanz ähnliche Verhältnisse wie bei jenem mit Fusarinsäure ergeben.

Als Modellsubstanz gelangte Komplexon III (Dinatriumsalz der Äthylendiamintetraessigsäure, Formel III) zur Verwendung (SCHWARZENBACH und ACKERMANN, 1947).



Formel III. Dinatriumsalz der Äthylendiamintetraessigsäure

Die Dosis minima dieser Substanz liegt bei 1860 mg/kg Pflanzengewicht (GÄUMANN und NAEF-ROTH, 1954). Vergleichsweise wurde gleichzeitig ein Test mit $5 \cdot 10^{-3}$ molarer Fusarinsäure gemacht.

Tabelle 7

Welkeeffekt von Fusarinsäure und Komplexon III in Abhängigkeit von der Stickstoffernährung

Substanz	Dosis mg/kg	Konz. molar	pH	Welkeeffekt			
				normal ernährt		Stickstoffmangel	
				Blatt	Stengel	Blatt	Stengel
Komplexon III	1860	$2 \cdot 10^{-2}$	6,5	1,85	0,5	0,9	0
Fusarinsäure	225	$5 \cdot 10^{-3}$	6,5	3,25	3,4	1,0	0

Wie aus der Tabelle 7 hervorgeht, ist die ernährungsbedingte Verschiebung der Empfindlichkeit für beide Stoffe ähnlich; sie erreicht zwar bei der Fusarinsäure ein größeres Ausmaß. Es scheint, als beruhe die Resistenz der Stickstoffmangel-Pflanzen teilweise auf einer größeren Resistenz gegen das Chelierungsvermögen. Wahrscheinlich ist aber die Resistenz der Stickstoffmangel-Pflanzen nicht allein damit zu erklären, ebensowenig wie der Welkeeffekt der Fusarinsäure bei den normal ernährten Pflanzen nur als Chelierungseffekt zu verstehen ist.

Ob alle Stoffwechselvorgänge, die durch Chelierung gestört werden können, bei den Stickstoffmangel-Pflanzen gegen die Chelierung widerstandsfähiger sind oder nur einzelne, kann nicht entschieden werden.

IV. Die Störung der Sauerstoffaufnahme durch die Fusarinsäure

Eine größere Anzahl von Atmungsfermenten enthält Kationen als Wirkungsgruppen (Warburg, 1947), die als Angriffspunkte für die Chelierung in Frage kommen. Zum Beispiel enthält das Cytochrom C Eisen (Theorell, 1941), die Phenoloxydase Kupfer (Nelson und Dewson, 1944). Eine Atmungshemmung durch die Fusarinsäure ist daher zu erwarten und kann auch nachgewiesen werden (Naef-Roth und Reusser, 1954; Reusser und Naef-Roth, 1955). Frau Dr. Naef-Roth und Dr. Reusser werden an anderer Stelle über ihre Versuche der Atmungsbeeinflussung von Tomatenpflanzen durch Fusarinsäure berichten. Wieweit die Atmungsstörung für die Entstehung der Nekrosen verantwortlich ist, wurde bisher noch nicht untersucht.

Die hier zu schildernden Versuche hatten nur die Aufgabe, zu zeigen, wieweit eine Übereinstimmung in der Schädigung des Atmungssystems der Stickstoffmangel-Pflanzen und der normal ernährten Pflanzen durch Fusarinsäure besteht.

Methodisches: Als Maß für die Atmung wurde nur die O_2-Aufnahme verwendet. Gemessen wurde sie mit Hilfe einer Warburg-Apparatur (Braun-Melsungen). Für die Einzelheiten und für die Beschreibung der Technik sei auf Warburg (1926), Dixon (1943), Umbreit, Burris und Stauffer (1949) verwiesen. Geprüft wurde die O_2-Aufnahme von Blattschnitzeln in einer auf pH 6 gepufferten Lösung, Versuchstemperatur 35 ° C. Den Berechnungen lagen die folgenden zwei Formeln zugrunde:

$$O_2\text{-Aufnahme in } mm^3 = H' \cdot K_{O_2} \text{ (Geiger-Huber, 1943)}$$

$$\text{Hemmung der } O_2\text{-Aufnahme in } \% = \frac{100 \cdot (K - R)}{K}$$

H' Differenz zwischen Druck in der Zeit t und Anfangsdruck in Manometerskalenteilen,

K_{O_2} Gefäßkonstante für die O_2-Aufnahme bei der entsprechenden Versuchstemperatur,

K Atmungsintensität der unbeschädigten Gewebe in mm^3/Zeit,

R Restatmung der vergifteten Gewebe in mm^3/Zeit.

Ergebnisse: In der Abb. 12 sind die Mittel mehrerer Wiederholungen aufgezeichnet. Eindeutig geht daraus hervor, daß sowohl die Atmung der normal ernährten Pflanzen wie der Stickstoffmangel-Pflanzen durch die Fusarinsäure gehemmt wird. Die O_2-Aufnahme der Stickstoffmangel-Pflanzen entspricht derjenigen der normal ernährten Pflanzen. Die Atmungsintensität wird also durch die unterschiedliche Ernährung nicht maßgebend verändert. Dasselbe stellte MÜLLER (1949) in seinen Versuchen zur Klärung des Stickstoffeinflusses auf die Stoffproduktion fest.

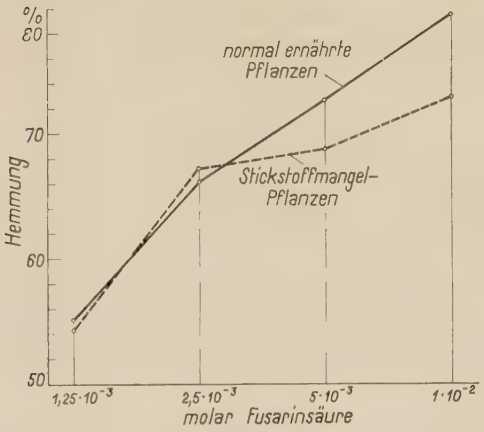


Abb. 12. Die Störung der O_2-Aufnahme durch Fusarinsäure bei Blattschnitzeln verschieden ernährter Pflanzen

Die Atmungshemmung erfolgte gleichermaßen, ob die Blattschnitzel zur Messung in einen Puffer von pH 6 oder nur in Wasser eingelegt waren.

Die Tatsache, daß die Atmung der Stickstoffmangel-Pflanzen durch die Fusarinsäure ebenso gehemmt wird wie die Atmung der normal ernährten Pflanzen, gestattet zwei Aussagen in bezug auf die Fusarinsäureresistenz der Stickstoffmangel-Pflanzen:

1. Die Resistenz in der Nekrosebildung der Stickstoffmangel-Pflanzen beruht nicht auf einer Resistenz des Atmungssystems dieser Pflanzen gegen die Fusarinsäure.
2. Die Fusarinsäure dringt sowohl bei den normal ernährten Pflanzen wie bei den Stickstoffmangel-Pflanzen in die Zellen ein. Die Resistenz kann also nicht mit einer allfälligen Undurchlässigkeit der Plasmamembran für die Fusarinsäure erklärt werden.

V. Über den Einfluß der Fusarinsäure auf das Plasma

a) Fragestellung

Die Arbeiten von THATCHER (1942), GOTTLIEB (1944), GÄUMANN und VON ARX (1947), GÄUMANN, NAEF-ROTH, REUSSER und AMMANN (1952) machten es wahrscheinlich, daß die Schädigung der Wirtspflanze durch die Stoffwechselprodukte des Erregers mindestens teilweise auf eine Schädigung der Protoplasten zurückzuführen ist. Es stellte sich die Frage, ob die Fusarinsäureresistenz der Stickstoffmangel-Pflanzen durch eine Resistenz des Protoplasmas dieser Pflanzen gegen die Fusarinsäure zu erklären ist. Die Beantwortung dieser Frage bietet Schwierigkeiten, deren größte darin besteht, daß die Fusarinsäure, wie Vorversuche ergaben, mehrere Einflüsse auf das Plasma ausübt, die nur schwer getrennt untersucht werden können.

Eine erste Wirkung der Fusarinsäure besteht in einer Erhöhung der Wasserpermeabilität der Protoplasten. Ob allerdings in den Versuchen von Thatcher (1942) (mit Kulturfiltrat von verschiedenen Erregern) und von Gottlieb (1944) (mit Blutungssaft infizierter Pflanzen) die Erhöhung der Wasserpermeabilität auf die Wirkung der Fusarinsäure zurückzuführen ist, wie das Gäumann, Naef-Roth, Reusser und Ammann (1952) vermuten, ist nach den Untersuchungen von Guttenberg und Beythien (1951) und Guttenberg und Meinl (1952) nicht sicher. Diese letzteren Autoren haben gezeigt, daß den Wuchsstoffen ebenfalls eine wasserpermeabilitätserhöhende Wirkung zukommt. Wir müssen annehmen, daß der Erreger der Tomatenwelke ebenfalls zur Bildung von Wuchsstoffen befähigt sein könnte, so daß theoretisch der Annahme nichts im Wege steht, daß in den Versuchen von Gottlieb (1944) und Thatcher (1942) die Erhöhung der Wasserpermeabilität nicht durch die Fusarinsäure, sondern durch — vom Erreger gebildete — Wuchsstoffe hervorgerufen wird.

Bei höheren Konzentrationen und bei langen Einwirkungszeiten bewirkt die Fusarinsäure noch die Koagulation der Protoplasten. Diese zweite Wirkung ist nicht, wie die nachstehenden Ausführungen zeigen, eine bloße Übersteigerung der Permeabilitätserhöhung durch die Fusarinsäure; denn diese beiden Wirkungen werden durch unterschiedliche Ernährung verschieden beeinflußt.

In den bisherigen Untersuchungen über die Störung der osmotischen Eigenschaften der Zellen durch die Fusarinsäure wurden diese beiden Wirkungen nicht auseinandergehalten, da es nur darum ging, festzuhalten, daß den Welkestoffen eine derartige Eigenschaft zukommt. Für die Untersuchung der Resistenzverhältnisse ist es aber notwendig, zwischen diesen beiden Wirkungen zu differenzieren.

b) Die Zerstörung der Protoplasten durch die Fusarinsäure

1. Methodisches

Gäumann, Naef-Roth, Reusser und Ammann (1952) hatten als Maß für die Schädigung der osmotischen Verhältnisse einerseits den Austritt von Anthocyan aus Randengeweben und anderseits die Streckung von Gewebeschnitten verwendet. Beim Randentest kann Anthocyan aus der Vakuole austreten als Folge der Zerstörung der Semipermeabilität des Protoplasmas und bei der Koagulation des Plasmas. Die Gewebestreifenmethode nach Ursprung und Blum (1916), Ursprung (1923) und Pringsheim (1931) gestattet es ebenfalls nicht, die beiden Wirkungen zu unterscheiden. Beiden Methoden ist außerdem gemeinsam, daß die Wirkung auf Gewebe und nicht auf einzelne Zellen kontrolliert wird.

Es mußte daher ein neues Objekt für die Untersuchung der Wirkung der Fusarinsäure auf das Plasma gesucht werden. Dieses wurde in den Haaren der Blattstielepidermis von Tomaten gefunden. Um möglichst einheitliche

Zellen für die Untersuchungen zu haben, wurde nur die erste Haarzelle nach der Basalzelle von mittellangen, meist dreizelligen Haaren zum Testen herangezogen. Mit einer Pinzette wurden auf der Oberseite von Blattstielen zwischen den Fiederblättern etwa 1/2 mm breite und 2 cm lange Epidermisstreifen abgezogen. Um ähnliche Blattstiele zu verwenden und damit Versuchsfehler auszumerzen, wurden nur die Blattstiele von normal großen Blättern gleichen Alters (von oben gezählt das 5. bis 7. Blatt) verwendet.

Diese Maßnahme erwies sich als notwendig, da nach den Untersuchungen von HÖFLER und STIEGLER (1929), HOFMEISTER (1938), BIEBL (1948, 1949) und URL (1952 b) große Unterschiede im Plasma verschiedener Gewebe einer und derselben Pflanze bestehen. Die Ergebnisse, die an Blattstielhaaren gewonnen wurden, können nur mit Vorbehalten auf andere Gewebe oder auf die ganze Pflanze übertragen werden.

Es darf aber angenommen werden, daß sich z. B. ein Ernährungseinfluß für die verschiedenen Gewebe der Pflanzen in der gleichen Richtung auswirkt, wenn auch die absoluten Werte des Einflusses verschieden sind.

Die Epidermisstreifen wurden je nach Versuch fünf Minuten bis drei Stunden in die entsprechenden Giftlösungen eingelegt. Für die Untersuchungen stand wiederum chemisch reine, synthetische Fusarinsäure zur Verfügung. Diese wurde in destilliertem Wasser gelöst, und von einer $1 \cdot 10^{-2}$ molaren Stammlösung wurden die anderen Verdünnungen hergestellt. Auf die Einstellung der Wasserstoffionenkonzentration auf ein bestimmtes pH wurde verzichtet, da die Wirkung von Puffer oder Lauge auf das Plasma unklar ist.

Abb. 13. Haarzelle der Blattstielepidermis nach 30minütiger Einwirkung einer $1 \cdot 10^{-2}$ molaren Fusarinsäurelösung. Erklärung im Text. Phasenkontrast, 320fache Vergrößerung

GUTTENBERG und MEINL (1952) zeigten, daß im Bereich von pH 4,7 bis 6,4 nur die Wasserpermeabilität verändert, der Protoplast aber nicht zerstört wird. Das pH wurde in allen Versuchen gemessen und soweit, als es von Bedeutung erschien, in den Tabellen aufgeführt. Alle Versuche wurden bei Zimmertemperatur und bei Tageslicht ausgeführt. Nach der entsprechenden Einwirkungszeit der Fusarinsäure wurden die Streifen aus der Toxinlösung herausgenommen, auf Filterpapier getrocknet und in eine 0,8molare Rohrzuckerlösung gebracht. Nach 20 bis 30 Minuten erfolgte die Kontrolle unter dem Phasenkontrastmikroskop bei 120facher Vergrößerung. Bestimmt wurde der Prozentsatz der noch normal plasmolysierenden Zellen. Die nicht mehr plasmolysierenden Zellen wiesen einen körnigen Inhalt auf, wie aus der Abb. 13 hervorgeht.

2. Resultate

Die Zerstörung der Protoplasten ist abhängig von der Einwirkungszeit und von der Konzentration der Toxinlösung, aber nicht von der Stickstoffversorgung der Testpflanzen. Als Beispiel für die Abhängigkeit der Protoplastenzerstörung von der Einwirkungszeit können die Zahlen der Tabelle 8 dienen.

Tabelle 8

Die Zerstörung der Protoplasten durch die Fusarinsäure in Abhängigkeit von der Zeit

Fusarinsäure $1 \cdot 10^{-3}$ molar; pH 5,6; normal ernährte Testpflanzen

Einwirkungszeit	zerstörte Protoplasten	noch plasmolysierende Protoplasten
5 Minuten	5 — 15 %	85 — 95 %
60 Minuten	30 — 40 %	60 — 70 %
180 Minuten	50 — 75 %	25 — 50 %

Dieser Einfluß der Fusarinsäure läßt sich nicht durch den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration erklären, da Haarzellen ein pH von 5,6 über mehrere Stunden ertragen.

Der Einfluß der Konzentration der Fusarinsäure auf die Plasmazerstörung ist sehr ausgeprägt. In der Konzentration $1 \cdot 10^{-2}$ molar ist innerhalb weniger Minuten die Großzahl der Protoplasten zerstört, während bei $1 \cdot 10^{-3}$ nach einer Stunde erst 30 bis 40 % koaguliert sind. In einer Wasserkontrolle sind nach einer Stunde 4 bis 8 % der Protoplasten sichtbar geschädigt. Dies ist auf eine Beschädigung der Haare beim Herstellen der Streifen oder beim Transport von einem Gefäß in das andere zurückzuführen.

Tabelle 9

Einfluß der Ernährung der Testpflanzen und Einfluß der Konzentration der Toxinlösung auf die Protoplastenkoagulation durch die Fusarinsäure

Einwirkungszeit 60 Minuten; Prozent koagulierte Zellen

Konzentration pH der Lösung	$1 \cdot 10^{-2}$ 4,7	$1 \cdot 10^{-3}$ 5,6	$5 \cdot 10^{-4}$ 5,8	$1 \cdot 10^{-4}$ 6,4	$5 \cdot 10^{-5}$ 6,5	$1 \cdot 10^{-5}$ 6,5	H_2O 6,5
normal ernährte Testpflanzen	91 %	38 %	32 %	17 %	12 %	6 %	6 %
stickstoffhungrige Pflanzen	94 %	37 %	29 %	21 %	17 %	8 %	8 %

Von Bedeutung für die Untersuchung der Fusarinsäureresistenz von Stickstoffmangel-Pflanzen ist die Tatsache, daß der Prozentsatz der zerstörten Protoplasten gleich ist für die stickstoffhungrigen Pflanzen wie für die normal ernährten. Die größere Widerstandskraft der Stickstoffmangel-Pflanzen gegen die Fusarinsäure kann nicht mit einer höheren Widerstandsfähigkeit der Protoplasten gegen die Koagulation erklärt werden. Zahlen-

mäßig ergibt sich für die verschieden ernährten Pflanzen das Bild der Tabelle 9, die gleichzeitig einen Überblick über den Einfluß der Konzentration der Fusarinsäure auf die Protoplastenzerstörung liefert.

c) Die Veränderung der Wasserpermeabilität der Protoplasten durch die Fusarinsäure

1. Methodisches: Die einzige einwandfreie Methode zur Feststellung der Permeabilitätsänderung bestünde in der Bestimmung der Wasserpermeationskonstanten der Protoplasten nach der Einwirkung von Fusarinsäure an Geweben von verschieden ernährten Tomatenpflanzen. Die Bestimmung der Wasserpermeationskonstanten (HÖFLER, 1930; RESÜHR, 1935; HOFMEISTER, 1948; BOCHSLER, 1948) setzt aber eine ideale Plasmolyse voraus. An den Blattstielhaaren ist dies für die mit Wasser behandelten Zellen der Fall (Abb. 14).

Abb. 14. Haarzelle der Blattstielepidermis nach 30minütiger Einwirkung von Leitungswasser. Erklärung im Text. Phasenkontrast; 240fache Vergrößerung

Durch die Einwirkung der Fusarinsäure wird aber der Plasmolysierungsvorgang gestört, es tritt Krampfplasmolyse an Stelle der idealen Plasmolyse ein (der Protoplast hebt sich unregelmäßig von der Zellwand ab, und es entstehen mehrere einzelne Plasmaklumpen, die aber teilweise wieder normal deplasmolysieren). An diesen nicht ideal plasmolysierenden Zellen können Länge und Breite der Protoplasten nicht einwandfrei bestimmt werden. Aus diesem Grunde mußte an Stelle dieser exakten Bestimmung ein möglichst gutes Hilfsverfahren treten. Für das gestellte Problem erwies sich die Messung der Deplasmolysezeit als Maß für die Wasserpermeabilität als geeignet. Bei der Deplasmolyse läßt sich leicht die Zeit messen, die vom Einbringen des Wassers bis zu dem Moment verstreicht, da der Protoplast die Querwände wieder zu drei Vierteln bedeckt. Das Ende der Deplasmolyse kann nicht genau bestimmt werden. Es wurde daher, wie es schon GUTTENBERG und BEYTHIEN (1951) vorschlugen, das vorstehend beschriebene und leichter feststellbare Stadium der Plasmolyse als Endpunkt der Zeitmessung verwendet.

Die Epidermisstreifen wurden von frischem Pflanzenmaterial gewonnen und eine Stunde in die entsprechende Konzentration der wässerigen Fusarinsäurelösung gelegt. Nach dieser Zeit wurden sie herausgenommen und etwa 50 Minuten in einer 0,8molaren Rohrzuckerlösung plasmolysiert. Dann erfolgte die Übertragung der Epidermisstreifen in die einfache Durchströmungskammer, wie sie RUHLAND und HOFFMANN (1929) beschrieben. Die Zeitmessung erfolgte je Verfahren an 40 bis 100 Zellen. Alle Versuche wurden zwei- bis dreimal wiederholt. Die Deplasmolysezeiten konnten nur an noch normal deplasmolysierenden Zellen gemessen werden, d. h. nur an Haaren,

die in Fusarinsäure geringerer Konzentration als $5 \cdot 10^{-3}$ molar gelegen hatten, da bei dieser und höheren Konzentrationen die Mehrzahl der Protoplasten zerstört war. Dies bringt es mit sich, daß bei höheren Konzentrationen der Fusarinsäure ($1 \cdot 10^{-3}$ und $5 \cdot 10^{-4}$ molar) ein Meßfehler entstand, da in diesen Verfahren nur noch die widerstandsfähigeren Zellen plasmolysierten. Dieser Fehler konnte etwas verringert werden, indem die Schnitte nur eine Stunde in die Fusarinsäure eingelegt wurden, was einen niedrigeren Prozentsatz an zerstörten Protoplasten ergibt als bei mehrstündigem Einwirken der Fusarinsäure.

Die obsoluten Deplasmolysezeiten schwankten sehr stark von Versuch zu Versuch. Sehr ähnlich blieb nur das Verhältnis der Deplasmolysezeiten der Wasserkontrolle zur Deplasmolysezeit der mit Toxin behandelten Haare. Um die großen Differenzen in den Deplasmolysezeiten auszuschalten, wurden je Verfahren 40 bis 100 Haare kontrolliert und die Ergebnisse gemittelt. Dann wurde aus den mittleren Deplasmolysezeiten der mit Wasser behandelten Haare und der Testhaare der Quotient K gebildet.

$K = \frac{T_K}{T_t}$ (DE HAAN, 1935; GUTTENBERG und BEYTHIEN, 1951).

K Wirkungsquotient, ein Maß für die Veränderung der Wasserpermeabilität > 1, wenn Erhöhung der Wasserpermeabilität, und < 1, wenn eine Hemmung der Wasserpermeabilität (Abdichtung) erzielt wurde,
T_K mittlere Deplasmolysezeit der Wasserkontrolle,
T_t mittlere Deplasmolysezeit für die geprüfte Toxinlösung.

2. Resultate: Die Fusarinsäure bewirkt eine Erhöhung der Wasserpermeabilität bei normal ernährten Tomatenpflanzen. Diese permeabilitätserhöhende Wirkung ist von der Konzentration abhängig. Sie ist bei $1 \cdot 10^{-3}$ molarer Fusarinsäure am größten, nimmt stetig ab und gibt bei $1 \cdot 10^{-5}$ molar keine gesicherte Zunahme mehr. Nach der Überschreitung der für das gleichmäßige Eindringen erforderlichen minimalen Zeit von etwa fünf Minuten ist keine gesicherte Zunahme der Wirkung der Fusarinsäure zu beobachten. Der Quotient K beträgt bei Einwirkung von $1 \cdot 10^{-3}$ molarer Fusarinsäure nach fünfminutiger Einwirkung 2,18 und nach dreistündiger 2,28.

Tabelle 10

Wirkung der Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität bei veränderter Ernährung

Quotient K; Einwirkungsdauer 1 Stunde

Konzentrationen	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-5}$
normal ernährte Pflanzen	+	2,28	1,91	1,62	1,07
Stickstoffmangel-Pflanzen	+	0,97	0,99	0,98	0,99

+ die Protoplasten sind koaguliert.

Die Veränderung der Wasserpermeabilität durch die Fusarinsäure ist sehr stark von der Stickstoffversorgung der Testpflanzen abhängig. In der Tabelle 10 sind die Resultate für verschiedene Konzentrationen von Fusarin-

säure für normal ernährte und für Stickstoffmangel-Pflanzen zusammengestellt.

THATCHER (1942) wählte für seine Ergebnisse eine andere Darstellungsweise. Er trug die Verteilung der in der Zeiteinheit deplasmolysierten Zellen graphisch auf und verglich die dabei entstehenden „Normalverteilungen" der verschieden behandelten Zellen miteinander. Diese Darstellung ergibt noch ein ausgeprägteres Bild für das unterschiedliche Verhalten von verschieden ernährten Testpflanzen. Die Ergebnisse für die Konzentration $1 \cdot 10^{-3}$ molar wurden nach der von THATCHER (1942) verwendeten Methode in Abb. 15 aufgezeichnet.

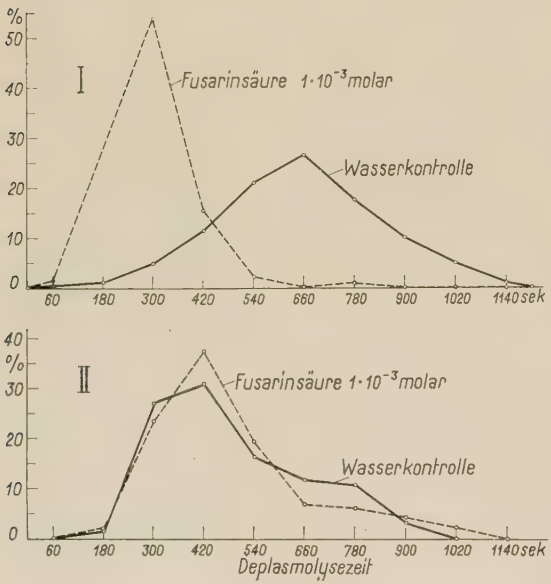


Abb. 15. Die Veränderung der Wasserpermeabilität durch die Fusarinsäure bei verschieden ernährten Pflanzen. Kurve I: normal ernährte Pflanzen; Kurve II: Stickstoffmangelpflanzen; Ordinate: Prozent der in der entsprechenden Zeit deplasmolysierten Zellen. Abszisse: Deplasmolysezeiten

Während die normal ernährten Pflanzen nach der Behandlung mit Fusarinsäure sehr stark verkürzte Deplasmolysezeiten, d. h. stark erhöhte Wasserpermeabilität aufweisen, deckt sich bei den Stickstoffmangel-Pflanzen die Kurve der Wasserkontrolle mit derjenigen der mit Fusarinsäure behandelten Zellen. Der Prozentsatz der koagulierten Protoplasten ist bei den normal ernährten Pflanzen derselbe wie bei den Stickstoffmangel-Pflanzen.

VI. Besprechung der Ergebnisse der Protoplastenveränderungen durch die Fusarinsäure

Über den Mechanismus der Protoplastenzerstörung (Koagulation) ist bis heute nichts bekanntgeworden, und auch die Ergebnisse mit anderen Stoffen (GÄUMANN und VON ARX, 1947; GÄUMANN, JAAG und BRAUN, 1947) lassen keine Rückschlüsse auf den Mechanismus dieser Protoplastenkoagulation zu. Für die Nekrosebildung ist aber nicht primär die Protoplastenzerstörung durch die Fusarinsäure verantwortlich (sonst müßten auch die Stickstoffmangel-Pflanzen Nekosen aufweisen), sondern die Erhöhung der Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Diese bleibt bei den Stickstoffmangel-Pflanzen aus, und damit bleibt auch die Nekrosebildung aus.

Für die Widerstandskraft der Stickstoffmangel-Pflanzen gegen die wasserpermeabilitätsschädigende Wirkung der Fusarinsäure ist keine einfache Erklärung zu finden; denn bis heute ist kein ähnliches Beispiel für die Protoplastenveränderung durch Stickstoffmangel bekannt. Eine gewisse Verwandtschaft besteht eventuell mit den Ergebnissen von Reuter (1937). Er stellte fest, daß das Plasma vergilbender Blätter (beim Vergilben wird der Stickstoff mobilisiert und in die nicht vergilbenden Teile transportiert) eine größere Resistenz gegen Narkotika und gegen Hitze aufweist als das Plasma normal grüner Blätter.

Die Wasserpermeabilität von Protoplasten normal ernährter Pflanzen wird nach den Untersuchungen von Guttenberg und Beythien (1951) durch Wuchsstoffe hinaufgesetzt. Im Bereich der höchsten Aktivität der Wuchsstoffe (Heteroauxin $5{,}7 \cdot 10^{-7}$ molar) erfolgt die Erhöhung der Wasserdurchlässigkeit des Protoplasmas, gemessen an *Rhoeo discolor*, in ähnlichem Ausmaß wie bei der Fusarinsäure $1 \cdot 10^{-3}$ molar, gemessen an Blattstielhaaren von Tomaten. Heteroauxin bringt in hoher Konzentration ($5{,}7 \cdot 10^{-3}$ molar) ebenso wie die Fusarinsäure bei $1 \cdot 10^{-2}$ molar die Protoplasten zur Koagulation. In einer späteren Arbeit zeigten Meinl und Guttenberg (1952), daß die Erhöhung der Wasserpermeabilität durch Heteroauxin auf einer erhöhten Quellung und einer erhöhten Viskosität des Plasmas beruht. Damit dürfte ein erster Schritt in Richtung einer Erklärung der Permeabilitätserhöhung durch Heteroauxin getan sein. Wieweit die permeabilitätserhöhende Wirkung der Fusarinsäure ebenfalls durch eine Erhöhung der Quellung und der Viskosität des Plasmas zu erklären ist, müssen spätere Versuche ergeben.

Durch die Feststellung, daß eine starke Wirkung der Fusarinsäure auf die Protoplasten besteht (Koagulation und Erhöhung der Wasserpermeabilität), rückt die Möglichkeit einer Erklärung der gewebespezifischen Wirkung der Fusarinsäure in die Nähe. Nach den Untersuchungen von Hofmeister (1938), Höfler und Stiegler (1929), Biebl (1949), Url (1951, 1952 a und 1952 b) bestehen große Unterschiede, was die Permeabilität des Plasmas anbetrifft, im Verhalten verschiedener Gewebe einer und derselben Pflanze. Ein Beleg für diese Hypothese würde die Untersuchung verschiedener Gewebe von Tomatenpflanzen auf die Empfindlichkeit ihrer Protoplasten gegen die Fusarinsäure ergeben. Aus zeitlichen Gründen konnte eine Untersuchung über die gewebespezifische Wirkung der Fusarinsäure nicht ausgeführt werden.

Höfler (1942) zeigte, daß die Plasmen verschiedener Arten sich deutlich voneinander unterscheiden, daß aber Ähnlichkeiten im Verhalten des Plasmas bestehen, die nicht durch systematische Verwandtschaft zu erklären sind. Linser (1952) und Biebl (1953) haben gezeigt, daß die Unterschiede in der Empfindlichkeit verschiedener Arten gegen das Unkrautbekämpfungsmittel 2,4 D (2,4 Dichlorphenoxyessigsäure) auf einer unterschiedlichen Empfindlichkeit des Plasmas der einzelnen Arten für dieses Gift besteht. Biebl (1949 a und 1949 b) wies auch große Unterschiede zwischen der Resistenz der Plasmen verschiedener Arten gegen B, Zn, Mn, Cr und V nach. Er macht auch darauf aufmerksam, daß die Resistenz unter Umständen durch verschiedene ökolo-

gische Bedingungen beeinflußbar sein könnte. Die in der vorliegenden Arbeit nachgewiesenen Unterschiede in der Resistenz gegen die wasserpermeabilitätsschädigende Wirkung der Fusarinsäure als Folge einer unterschiedlichen Ernährung sind ein erstes Beispiel für die von BIEBL (1949 a) vermutete Beeinflußbarkeit der Resistenz der Protoplasten gegen Wirkstoffe durch ökologische Bedingungen.

Die von BIEBL (1949, 1953) und LINSER (1952) bewiesenen artspezifischen Unterschiede in der Resistenz der Plasmen gegen 2,4-D und andere Wirkstoffe geben Anlaß zur Hypothese, daß das Wirkungsspektrum der Fusarinsäure durch ein unterschiedliches Verhalten der Plasmen verschiedener Arten bestimmt sei. Hinweise für die Richtigkeit dieser Hypothese ließen sich leicht durch experimentelle Untersuchungen gewinnen, doch können diese Untersuchungen nicht im Rahmen dieser Arbeit ausgeführt werden.

E. Zusammenfassung

1. Die Ernährung steuert maßgebend die Empfindlichkeit für Fusarinsäure bei der mittelanfälligen Tomatensorte Tuckswood. Die Empfindlichkeit der Tomatenpflanzen für Lycomarasmin und Eisen-Lycomarasmin wird durch die Ernährung ebenfalls verändert, wenn auch weniger stark als für die Fusarinsäure.

2. Die höchste Empfindlichkeit besitzen normal ernährte Pflanzen. Die Empfindlichkeit wird herabgesetzt bei allgemeiner Unterernährung (zurückzuführen auf den Stickstoffmangel) und bei allgemeiner Überernährung (als Folge hoher Salzkonzentration).

3. Untersuchungen von STODDARD und DIMOND (1948) zeigten, daß die normal ernährten Pflanzen auch die größte Krankheitsbereitschaft aufweisen. Die Erkrankungsdisposition und die Toxinresistenz werden bei der durch *Fusarium lycopersici* Sacc. verursachten Welkekrankheit der Tomate durch die Ernährung in der gleichen Richtung und in ähnlichem Ausmaß verschoben.

4. Für die geprüften Toxine (Fusarinsäure, Lycomarasmin und Eisen-Lycomarasmin) wirkt Stickstoffmangel stark empfindlichkeitsvermindernd.

5. Die Phosphorsäureversorgung der Testpflanzen übt keinen, die methodischen Fehler überwiegenden Einfluß auf die Toxinresistenz aus.

6. Die Fusarinsäure hemmt die Atmung sowohl der normal ernährten Pflanzen als auch der Stickstoffmangel-Pflanzen. Die Resistenz der Stickstoffmangel-Pflanzen gegen die Fusarinsäure ist also nicht auf eine Resistenz des Atmungssystems dieser Pflanzen zurückzuführen.

7. Die Fusarinsäure koaguliert in höherer Konzentration die Protoplasten. Auch die Koagulation läßt sich durch unterschiedliche Stickstoffernährung nicht beeinflussen.

8. Die Fusarinsäure erhöht schon in geringer Konzentration und bei kurzer Einwirkungszeit die Wasserpermeabilität des Plasmas der normal ernährten Pflanzen. Diese permeabilitätserhöhende Wirkung der Fusarinsäure bleibt bei den Stickstoffmangel-Pflanzen aus. Es wird vermutet, daß diese permeabilitätserhöhende Wirkung primär für das Zustandekommen der Nekrosen verantwortlich ist.

9. Das Ausbleiben der Nekrosen bei der Fusarinsäurevergiftung der Stickstoffmangel-Pflanzen ist wahrscheinlich durch die Resistenz des Protoplasmas dieser Pflanzen gegen die permeabilitätserhöhende Wirkung der Fusarinsäure zu erklären.

Literaturverzeichnis

Biebl, R.: 1948: Permeabilitätsversuche an der Kartoffelpflanze. Österreich. Bot. Z. **95**, 129—146.

— —, 1949 a: Vergleichende chemische Resistenzstudien an pflanzlichen Plasmen. Protoplasma **39**, 1—13.

— —, 1949 b: Über die Resistenz pflanzlicher Plasmen gegen Vanadium. Protoplasma **39**, 251—259.

— —, 1953: Über die Resistenz pflanzlicher Plasmen gegen 2,4-D. Protoplasma **43**, 193.

Bochsler, A., 1948: Die Wasserpermeabilität des Protoplasmas auf Grund des Fickschen Diffusionsgesetzes. B. Schweiz. Bot. Ges. **58**, 73—123.

Boller, A., 1951: Über Lycomarasmin, ein welkeaktives Stoffwechselprodukt aus *Fusarium lycopersici* Sacc. Diss. ETH.

Brauner, L., 1932: Pflanzenphysiologisches Praktikum. II. Teil, Jena.

Burström, H., 1945: The nitrate nutrition of plants. Ann. of the Royal Agr. College of Sweden **13**, 1—86.

Clauson-Kaas, N., Plattner, Pl. A. und Gäumann, E., 1944: Über ein welkeerzeugendes Stoffwechselprodukt von *Fusarium lycopersici* Sacc. B. Schweiz. Bot. Ges. **54**, 523 bis 528.

Cook, W. S., 1937: Relation of nutrition of tomato to disposition to infectivity and virulence of *Fusarium lycopersici*. Bot. Gaz. **98**, 647—669.

Davis, D., 1953: The role of enzymes in the etiology of fusarium wilt of tomato. Phytopathology **43**, 470.

Denffer, D., 1940: Über die Wechselbeziehungen zwischen Stickstoffbedürfnis und photoperiodischer Reaktion bei einigen Lang- und Kurztagpflanzen. Planta **31**, 418—447.

Deuel, H., 1954: Über die Störungen des Spurenelementhaushaltes der Pflanzen durch Welketoxine. Phytopath. Z. 1954, **21**, 337—348.

Dimond, A. E. und Waggoner, P. E., 1952: Biochemistry of the lycomarasmin chelated complex. Phytopathology **42**, 465.

— — und — —, 1953: The physiology of lycomarasmin production by *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*. Phytopathology **43**, 195—199.

Dixon, M., 1943: Manometric methods. Cambridge (University Press).

FOSTER, R. F. und WALKER, J. C., 1947: Predisposition of tomato to fusarium wilt. J. of Agr. Res. 74, 165—185.

GÄUMANN, E., 1951: Über den Einfluß der Temperatur auf den Welkeeffekt beim toxigenen Welken. Phytopath. Z. 17, 1—4.

— — und VON ARX, A., 1947: Antibiotica als pflanzliche Plasmagifte II. B. Schweiz. Bot. Ges. 57, 174—183.

— —, JAAG O. und BRAUN, R., 1947: Antibiotica als pflanzliche Plasmagifte I. Experientia 3, 70—71.

— —, KERN, H. und SAUTHOFF, W., 1952: Untersuchungen über zwei Welketoxine. Phytopath. Z. 18, 404—415.

— — und NAEF-ROTH, ST., 1950 a: L'influence de la température sur le degré de toxicité des toxines phytopathogènes. C. R. Ac. Sc. Paris 230, 258—260.

— — und — —, 1950 b: Über die unterschiedliche biologische Wertigkeit junger Gewebe von verschieden alten Pflanzen. Phytopath. Z. 17, 233—239.

— — und — —, 1953 a: Über einen mutmaßlichen Desensibilisierungseffekt bei einem Welketoxin. Phytopath. Z. 20, 133—166.

— — und — —, 1953 b: Über den jahreszeitlichen Gang der Welketoxin-Empfindlichkeit der Tomatenpflanzen. Phytopath. Z. 20, 449—458.

— — und — —, 1954: Über die chelierende Wirkung einiger Welketoxine I. Phytopath. Z. 21, 349—366.

— —, — — und KOBEL, H., 1952: Über Fusarinsäure, ein zweites Welketoxin von *Fusarium lycopersici* Sacc. Phytopath. Z. 20, 1—38.

— —, — — und MIESCHER, G., 1950: Untersuchungen über das Lycomarasmin. Phytopath. Z. 16, 258—288.

— —, — —, REUSSER, P. und AMMANN, A., 1952: Über den Einfluß einiger Welketoxine und Antibiotica auf die osmotischen Eigenschaften pflanzlicher Zellen. Phytopath. Z. 19, 160—220.

— — und RIETHMANN, O., 1938: Zur Methodik der Versuche mit konstanten Bodentemperaturen. Phytopath. Z. 11, 616—631.

— —, STOLL, CHR. und KERN, H., 1953: Über Vasinfuscarin, ein drittes Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc. Phytopath. Z. 20, 345—347.

GEIGER-HUBER, M., 1934: Über den Einfluß der Konzentration des Atmungsmaterials auf die Atmungsgeschwindigkeit von Pflanzen. Jahrb. f. wiss. Bot. 81, 1—34.

GOTHOSKAR, S. S. und SCHEFFER, R. P., 1953: Pectic enzymes in the physiology of fusarium wilt of tomato. Phytopathology 43, 472.

— —, — —, WALKER, J. C. und STAHMANN, M. A., 1953: The role of pectic enzymes in fusarium wilt of tomato. Phytopathology 43, 535—536.

GOTTLIEB, D., 1944: The mechanism of wilting caused by *Fusarium bulbigenum* var. *lycopersici*. Phytopathology 34, 41—59.

GUTTENBERG, H. v. und BEYTHIEN, A., 1951: Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Planta 40, 36—69.

— — und MEINL, G., 1952: Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. II. Mitteilung. Planta 40, 431—442.

HAAN DE, JZ., 1935: Ionenwirkung und Wasserpermeabalität. Ein Beitrag zur Koazervattheorie der Plasmagrenzschichten. Protoplasma 24, 186.

HECK, W. W. und BAILEY, L. F., 1950: Chelation of trace metals in nutrient solutions. Plant Physiol. 25, 573—582.

HERZFELD, L., PRIJS, B. und ERLENMEYER, H., 1953: Über das Thiazol-Isostere der Fusarinsäure. Helv. Chim. Acta 36, 1842—1845.

HEWITT, E. J., 1952: Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition. Commonwealth Agr. Bureaux.

Hoagland, D. R., 1944: Lectures on the inorganic nutrition of plants. Chronica Botanica Company, Waltham, Mass., USA.

— — und Snyder, W. C., 1933: Nutrition of Strawberry plant under controlled conditions. Am. Soc. f. Horticultural Science **30**, 288—293.

Höfler, K., 1930: Eintritts- und Rückgangsgeschwindigkeit der Plasmolyse. Jahrb. f. wiss. Bot. **73**, 300—350.

— —, 1942: Unsere derzeitige Kenntnis von den spezifischen Permeabilitätsreihen. B. dtsch. Bot. Ges. **60**, 179—200.

— — und Stiegler, A., 1929: Permeabilitätsverteilung in verschiedenen Geweben der Pflanzen. Protoplasma **9**, 468—507.

Hofmeister, L., 1938: Verschiedene Permeabilitätsreihen bei ein und derselben Zellsorte von *Ranunculus repens*. Jahrb. f. wiss. Bot. **86**, 401—419.

— —, 1948: Über Permeabilitätsbestimmung nach der Plasmolysezeit. Öst. Akad. d. Wiss. math.-nat. Reihe **85**, 106.

Jacobson, L., 1951: Maintenance of iron supply in nutrient solution by a single addition of ferric-potassium-ethylene-diamine-tetraacetate. Plant Physiol. **26**, 411—413.

Kern, H., 1952: Über die Beziehungen zwischen dem Alkaloidgehalt verschiedener Tomatensorten und ihrer Resistenz gegen *Fusarium lycopersici*. Phytopath. Z. **19**, 351—382.

Knop, W., 1860: Über die Ernährung der Pflanzen durch wäßrige Lösungen unter Ausschluß des Bodens. Landw. Versuchs-Stationen **2**, 65.

— —, 1861: Quantitative analytische Arbeiten über den Ernährungsprozeß der Pflanzen. Landw. Versuchs-Stationen **3**, 295.

— —, 1865: Quantitative analytische Arbeiten über den Ernährungsprozeß der Pflanzen. Landw. Versuchs-Stationen **7**, 93.

Kobel, Fr., 1951: Untersuchungen über die toxischen Stoffwechselprodukte von *Nectria cinnabarina* Fr. Phytopath. Z. **18**, 157—195.

Linder, A., 1951: Statistische Methoden. 2. Aufl., (Birkhäuser) Basel.

— —, 1953: Planen und Auswerten von Versuchen. (Birkhäuser) Basel.

Meinl, G. und Guttenberg, H. v., 1952: Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Permeabilität des Protoplasmas. III. und IV. Mitteilung. Planta **41**, 167—189.

Müller, D., 1932: Analyse der verminderten Stoffproduktion bei Stickstoffmangel. Planta **16**, 1—23.

— —, 1949: Die physiologischen Grundlagen für die Mangelsymptome der Pflanzen. Physiologia Plantarum **2**, 11—23.

— — und Larsen, P., 1935: Analyse der Stoffproduktion bei Stickstoff- und Kalimangel. Planta **23**, 501—517.

Naef-Roth, St. und Reusser, P., 1954: Über den Einfluß der Fusarinsäure auf den Gaswechsel von Blattgeweben. Phytopath. Z. **22**, H. 3.

Nelson, J. M. und Dawson, C. R., 1944: Tyrosinase. Advances in Enzymology **4**, 99 pp.

Plattner, Pl. A. und Clauson-Kaas, N., 1944: Über ein Welke erzeugendes Stoffwechselprodukt von *Fusarium lycopersici* Sacc. Helv. Chim. Acta **28**, 188—195.

— — und — —, 1945: Über Lycomarasmin, den Welkestoff aus *Fusarium lycopersici* Sacc. Experientia **1**, 195—196.

— —, Keller, W. und Boller, A., 1954: Konstitution und Synthese der Fusarinsäure. Helv. Chim. Acta **37**, 1379—1392.

Pringsheim, E. G., 1931: Untersuchungen über Turgordehnung und Membranbeschaffenheit. Jahrb. f. wiss. Bot. **74**, 749—796.

Resühr, B., 1935: Zur Theorie der Plasmolysedauer und Deplasmolysedauer. Protoplasma **23**, 337—348.

Reusser, P. und Naef-Roth, St., 1955: Über den Einfluß der Fusarinsäure auf den Gaswechsel der Hefe. Phytopath. Z., in Vorbereitung.

Reuter, L., 1937: Protoplasmatik vergilbender Blätter. Protoplasma **27**, 270 pp.

Roemer, Th., Fuchs, W. H. und Isenbeck, K., 1938: Die Züchtung resistenter Rassen der Kulturpflanzen. (Parey) Berlin.

Ruhland, W. und Hoffmann, C., 1925: Die Permeabilität von *Beggiatoa mirabilis*. Ein Beitrag zur Ultrafiltertheorie des Plasmas. Archiv f. wiss. Bot. **1**, 1—83.

Schreiner, O. und Shorey, E. C., 1908: Isolation of Picolinecarboxylicacid from soils and its relation to soil fertility. J. Am. Chem. Soc. **30**, 1295.

Schropp, W., 1951: Der Vegetationsversuch. I. Methodik der Wasserkultur höherer Pflanzen. Berlin.

Schwarzenbach, G. und Ackermann, H., 1947: Komplexone V. Die Aethylendiamintetraessigsäure. Helv. Chim. Acta **30**, 1798—1804.

Shive, J. W., 1915: A three-salt nutrient solution for plants. Am. J. Bot. **2**, 157—160.

— —, 1918: A study of physiological balance for buckwheat grown in 3-salt solutions. Bull. New Jersey agr. Exp. Stat. **319**.

Stewart, J. und Leonard, C. D., 1952: Chelates as sources of iron for plant growing in the field. Science **116**, 564.

Stoddard, E. M. und Dimond, A. E., 1948: Influence of nutritional level on the susceptibility of tomatoes to fusarium wilt. Phytopathology **38**, 670—671.

Tamari, K. und Kaji, I., 1952 und 1953: Studies on the mechanism of injurious action of fusarinic acid on plant growth. (Nach engl. Zusammenfassung) J. Agr. Chem. Soc. Japan **26**, 223—227, 295—298, 298—303, 345—349, 349—353; **27**, 245—249, 302 pp.

Thatcher, F. S., 1942: Further studies of osmotic and permeability relation in parasitism. Canadian J. Res. **20** C, 283—311.

Theorell, H., 1941: Studies on Cytochrom C. IV. The magnetic properties of ferric and ferrous Cytochrom C. J. Am. Chem. Soc. **63**, 1820—1827.

Umbreit, W. W., Burris, R. H. und Stauffer, J. F., 1949: Manometric techniques and tissue metabolism. Minneapolis (Burgess publishing Co.).

Url, W., 1951: Permeabilitätsverteilung in den Zellen des Stengels von *Taraxacum officinale* und anderer krautiger Pflanzen. Protoplasma **40**, 475—501.

— —, 1952 a: Permeabilitätsstudien mit Fettsäureamiden. Protoplasma **41**, 287—301.

— —, 1952 b: Unterschiede der Plasmapermeabilität in den Gewebeschichten krautiger Stengel. Physiologia Plantarum **5**, 135—144.

Ursprung, A., 1923: Zur Kenntnis der Saugkraft. VII. Eine neue vereinfachte Methode zur Messung der Saugkraft. B. dtsch. Bot. Ges. **41**, 338—343.

— — und Blum, G., 1916: Zur Methodik der Saugkraftmessung. B. dtsch. Bot. Ges. **34**, 525—539.

Waggoner, P. E. und Dimond, A. E., 1953: Role of chelation in causing and inhibiting the toxicity of Lycomarasmin. Phytopathology **43**, 281—284.

Walker, J. C. und Foster, R. E., 1946: Plant nutrition in relation to disease development. III. Fusarium wilt of tomato. Am. J. Bot. **33**, 259—264.

Warburg, O., 1926: Über den Stoffwechsel der Tumoren. (Springer) Berlin.

— —, 1947: Schwermetalle als Wirkungsgruppen von Fermenten. (Sänger) Berlin.

Winstead, N. N. und Walker, J. C., 1954: Production of vascular browing by metabolites from several pathogens. Phytopathology **44**, 153—158.

Woolley, D. W., 1946: Streptogenin activity of seryl, glycyl, glutaminic acid. J. biol. Chem. **166**, 783—784.

— —, 1948 a: Studies on the structure of Lycomarasmin. J. biol. Chem. **176**, 1291—1298.

— —, 1948 b: Synthesis and determination of Lycomarasmin activity of some derivatives of aspartic-acid. J. biol. Chem. **176**, 1299—1308.

Yabuta, T., Kambe, K. und Hayashi, 1934: J. Agr. Chem. Soc. Japan **10**, 1059—1068, zitiert nach Chem. Abstract **29**, 1132, 1935.

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich
Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann

Der Einfluß der toxigenen Welke auf die Blattausscheidungen der Tomatenpflanze

Von

H. F. Linskens

Mit 11 Abbildungen

Einleitung

In der Reaktionskette, die bei der toxigenen Welke der Tomaten auftritt, sind drei Phasen der Giftwirkung zu unterscheiden (Gäumann-Jaag 1947 a):

1. Die Schockphase. Sie äußert sich im Transpirationsversuch als Störung der Wasserbilanz durch gleichsinnige Drosselung von Wasseraufnahme und -abgabe. Manifeste Symptome sind nicht zu beobachten.

2. Phase der übersteigerten Transpiration. Während das Gesamtfrischgewicht der Sprosse langsam abnimmt, kommt es zu einer Erhöhung der Transpiration, die um 50 % größer sein kann als die gleichzeitige Übersteigerung der Wasseraufnahme.

3. Phase der Lähmung. Transpiration und Wasseraufnahme nehmen fortgesetzt ab. Da das Wasserdefizit ständig größer wird, verlieren die Sprosse ihre Turgeszenz.

Dieses für die Lycomarasmin-Wirkung aufgestellte Schema gilt für andere Welketoxine ähnlich. Das Auftreten der Welkesymptome ist unabhängig von dem Verlauf der Störung des Wasserhaushaltes.

Nach der von Gäumann und Jaag (1946, 1947 a) entwickelten Theorie über das Zustandekommen der irreversiblen pathologischen Welke ist die

primäre Ursache in der Schädigung der Permeabilität der Plasmagrenzschichten zu suchen: durch die Welketoxine werden die physikalisch-chemischen Voraussetzungen für den Turgor aufgehoben, und der Turgeszenzverlust des betroffenen Gewebes, ausgedrückt als Welkeeffekt, ist die zwingende Folge. Hinweise für diese Vorstellung lassen sich nicht nur aus dem Verlauf der Transpirationskurven gewinnen (GÄUMANN-JAAG 1946, 1947 a, b, c, 1950), sondern auch aus Modellversuchen mit reinen

Abb. 1—4. Welkebild an einzelnen Tomatenblättern (Sorte *Tuckswood*) nach Lycomarasmin-Aufnahme. Abb. 1 (links oben) Welkeindex 1; Abb. 2 (rechts oben) Welkeindex 2; Abb. 3 (links unten) Welkeindex 3; Abb. 4 (rechts unten) Welkeindex 4

Welketoxinen an anderen Geweben (Gäumann-Jaag-Braun 1947, Gäumann-v. Arx 1947, Gäumann-Naef-Roth-Reusser-Ammann 1950). Weiterhin kann eine Toxindosierung gefunden werden (Gäumann-Jaag 1946), die noch eine Störung der Wasserbilanz verursacht, aber keine grobsinnlichen Welkesymptome mehr erzeugt. Aus dieser differenzierten Wir-

Abb. 5—8. Welkebild an einzelnen Tomatenblättern (Sorte *Tuckswood*) nach Fusarinsäure-Aufnahme. Abb. 5 (links oben) Welkeindex 1; Abb. 6 (rechts oben) Welkeindex 2; Abb. 7 (links unten) Welkeindex 3; Abb. 8 (rechts unten) Welkeindex 4

kung in Abhängigkeit von der angewandten Dosis kann geschlossen werden, daß bei schwachen Dosen lediglich die Wasserpermeabilität ausgeschaltet wird, während bei Überschreiten einer gewissen Schwelle die Semipermeabilität der Plasmagrenzschichten für osmotisch wirksame Substanzen betroffen wird.

Ist die geschilderte Vorstellung richtig, so müßte im letzteren Falle mit dem Transpirationsstrom osmotisch wirksame Substanz akropetal befördert werden und dann als Transpirationsrückstand an den Blattgrenzflächen gegenüber der Atmosphäre nachzuweisen sein.

Aus den älteren Untersuchungen von ARENS (1934), LAUSBERG (1935) und ENGEL (1939) ist bekannt, daß es schon unter normalen Verhältnissen an oder in den kutikularen Schichten zur Anreicherung von Aschensubstanzen kommt, die durch Benetzung mit Wasser abgespült werden können. Diese als kutikuläre Rekretion zu bezeichnende Erscheinung läßt Rückschlüsse zu auf den Zustand der Plasmagrenzschichten: die aus dem Protoplasten in die wasserdurchtränkten Intermizellarräume der Zellwände diffundierenden Stoffe müssen letztlich aus dem Plasma bzw. den Vakuolen stammen. Wird also die Semipermeabilität der Grenzschichten durch Welketoxine betroffen, so müssen die Transpirationsrückstände auf den Blattoberflächen Zellinhaltsstoffe anzeigen. Wäscht man Blattoberflächen ab, so ist das Waschwasser in der Lage, Rückschlüsse über die Permeabilitätsveränderungen zu geben.

Wir untersuchten daher Größe und Natur der kutikulären Rekretion an Tomatenpflanzen bei toxigenem Welken.

Methodik des Welketestes

Die zu allen Untersuchungen benutzten Pflanzen stammen aus Welketesten, die unter streng standardisierten Bedingungen durchgeführt wurden. Die Anzucht erfolgt im Glashaus, so daß atmosphärische Verunreinigungen auf ein Mindestmaß reduziert sind. Tomatensämlinge der mittelanfälligen Sorte *Tuckswood* werden in frisch sterilisierte Erde (halb Komposterde, halb Holländer-Torfmull) pikiert. Von den etwa 20 bis 25 cm hohen Pflanzen werden möglichst gleichartige Sproßenden mit je vier Blättern mit der Rasierklinge geschnitten, sofort in Brunnenwasser gestellt und anschließend gewogen. Für jede Pflanze wird die entsprechende Dosis in ml einer $2{,}5 \times 10^{-3}$ oder 5×10^{-3} molaren Toxinlösung berechnet, die unter konstanten Bedingungen (Temperatur 21 ° C, relative Feuchtigkeit 65 ± 5 %, Beleuchtung durch Fluoreszenzlampen Philips TL 25 w/33 im Abstand von etwa 60 cm) aufgenommen werden muß; die dazu benötigte Zeit beträgt je nach Dosis eine bis acht Stunden. Nach Aufnahme der entsprechenden Toxin-Dosis werden die Pflanzen bei gleichbleibenden Außenbedingungen in Brunnenwasser zurückgestellt. Die Bonitierung erfolgt nach 48 Stunden nach dem folgenden Schema (Abb. 1 bis 8):

Welke-Index	Lycomarasmin		Fusarinsäure	
	Blatt	Stengel	Blatt	Stengel
0	0	0	0	0
1	Blattspitzen geschädigt	0	Blattspitzen geschädigt	Stengel im unteren Viertel kollabiert
2	Blattspitzen und Blattränder an den ersten drei Fiederblättern geschädigt. Nekrosen in den Interkostalfeldern	0	Blattspitzen und Blattränder an den ersten drei Fiederblättern geschädigt. Nekrosen vornehmlich im Bereich der Blattnerven	Stengel zur Hälfte kollabiert unter Rillenbildung
3	Blattspitzen und Blattränder an allen Fiederblättern geschädigt. Nekrosen auf allen Fiedern	0	Blattspitzen und Blattränder an allen Fiederblättern geschädigt. Nekrosen auf allen Fiedern	Stengel zu $^3/_4$ kollabiert unter Rillenbildung
4	Gesamte Blattlamina nekrotisch	0	Gesamte Blattlamina nekrotisch	Stengel total nekrotisch, fadendünn eingeschrumpft

Der Stengel wird als Ganzes, die vier Blätter jeweils einzeln bonitiert. Die Werte der vier Blätter werden gemittelt. So ergeben sich je Pflanze zwei Bonitierungszahlen. Je Versuchsstufe werden 15 bis 20 Parallelpflanzen verwendet und deren Bonitierungszahlen für Blatt und Stengel gemittelt.

KAPITEL I

Die Leitfähigkeit von Waschwässern

Die Größe der kutikulären Rekretion läßt sich am einfachsten ausdrücken in Leitfähigkeitsänderungen des Waschwassers, wenn gleiche Flächen bei gleichbleibenden Versuchsbedingungen herangezogen werden. So ergibt sich als

1. Versuchsfrage: Wie ändert sich die Leitfähigkeit von Blattwaschwässern der Tomate nach toxigener Welke?

Die Messung der elektrolytischen Widerstände erfolgte mit der Philips Universalmeßbrücke Philoscop Typ GM 4140 und einem Niederfrequenzoszillator für 1000 Hz Typ 4260 unter Verwendung einer geeichten Meßzelle Typ GM 4221. Aus den abgelesenen Widerstandswerten ergibt sich die spezifische Leitfähigkeit nach folgender Formel: $\frac{1}{\alpha \cdot R_x}$. Dabei bedeuten α = Eichkonstante der Meßzelle (1,40), R_x = den abgelesenen Widerstandswert in Ohm.

Je Versuchsgruppe wurden annähernd gleiche Blattflächen verwendet und 48 Stunden nach der Vergiftung in 110 ml Ionenaustauscher-Wasser 30 Min. lang eingetaucht. Dabei wurde darauf geachtet, daß Schnittstellen nicht eintauchten. Das so erhaltene Waschwasser wurde bei 80° C eingeengt

und der Rückstand mit 12 ml IA-Wasser aufgenommen und zur Messung benutzt. Die Tabellen 1 und 2 geben die gefundenen Werte wieder.

Tabelle 1

Elektrolytischer Widerstand von Blatt-Waschwasser nach Lycomarasmin- und Fusarinsäure-Vergiftung

	Welke-Index	Blattfläche (einseitig) cm^2	elektrolyt. Widerstand Ohm	spezif. Leitfähigkeit $10^{-5} \cdot Ohm^{-1}$
Waschwasser vorher	—	—	33.000	0,21
Kontrolle ungewelkt	0	1020	9.200	1,09
tox. welk durch Fusarinsäure pH 6,5; 5×10^{-3} mol 225 mg/kg	2,10	1115	3.240	3,10
Waschwasser vorher	—	—	34.000	0,22
Kontrolle ungewelkt	0	1103	10.740	0,93
tox. welk durch Lycomarasmin pH 6,5; 5×10^{-3} 300 mg/kg	1,01	979	4.820	2,08

Aus der Tabelle 1 ergibt sich, daß sowohl nach Vergiftung mit Fusarinsäure als auch mit Lycomarasmin gegenüber den unvergifteten Kontrollen eine bedeutende Erhöhung der spezifischen Leitfähigkeit der Blatt-Waschwässer zu beobachten ist. Dies bedeutet, daß als Folge der Vergiftung eine erhöhte Rekretion durch die Kutikularschichten hindurch stattgefunden hat. Da der Transpirationsstrom die Protoplasten allseitig umfließt, dürften die leitfähigkeitserhöhenden Substanzen aus dem Plasma stammen.

In einer weiteren Serie wurde der Einfluß von Aschenzusätzen zu den Welketoxinen geprüft, die einen verstärkten Welkeeffekt in bestimmten Konzentrationen ergeben (GÄUMANN-NAEF-ROTH 1954 a, b). Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengestellt und zeigen, daß die Höhe der Rekretion wahrscheinlich auch von der Größe des Welkeindexes abhängig ist. Bei den stark gewelkten Pflanzen, die sich durch die Applikation von Toxinlösungen mit Aschezusätzen ergeben, steigen die Leitfähigkeitswerte auch entsprechend an. — Von Interesse war in diesem Zusammenhange auch das Verhalten von physiologisch gewelkten Pflanzen zu kennen. So ergibt sich als

2. Versuchsfrage: Wie ändert sich die Leitfähigkeit von Blattwaschwässern der Tomate nach physiologischer Welke?

Dazu wurden gleichartige Pflanzen benutzt, zur Hälfte jedoch vor der Abwaschung der Blattoberflächen sechs Stunden lang bei 24° C und einer relativen Feuchte von 65% am Tageslicht ohne Wasserzufuhr durch die abgeschnittenen Sprosse belassen. Sie erreichten so einen sehr ausgeprägten Welkezustand. In Tabelle 3 sind die ermittelten Werte zusammengestellt.

Tabelle 2

Elektrolytischer Widerstand von Blatt-Waschwasser nach Vergiftung durch Lycomarasmin-Asche bzw. Fusarinsäure-Asche-Lösungen

	Welke-Index	Blattfläche (einseitig) cm^2	elektrolyt. Widerstand Ohm	spezif. Leitfähigkeit $10^{-5} \cdot Ohm^{-1}$
Waschwasser vorher	—	—	36.000	0,19
Kontrolle ungewelkt	0	12.586	6.200	1,65
tox. welk durch Lycomarasmin-Asche (10 000 mg/kg) pH 6,5; $2{,}5 \times 10^{-3}$mol 225 mg/kg	2,48	13.200	1.840	5,56
tox. welk durch Lycomarasmin-Asche (15 000 mg/kg) pH 6,5; $2{,}5 \times 10^{-3}$mol 225 mg/kg	3,18	13.505	1.400	7,11
Waschwasser vorher	—	—	34.000	0,22
Kontrolle ungewelkt	0	925	19.000	0,51
tox. welk durch Lycomarasmin-Asche (11 000 mg/kg) pH 6,5; $2{,}5 \times 10^{-3}$mol 225 mg/kg	1,68	688	9.050	0,96
tox. welk durch Lycomarasmin-Asche (11 000 mg/kg) pH 6,5; $2{,}5 \times 10^{-3}$mol 250 mg/kg	2,10	724	8.700	1,15
Waschwasser vorher	—	—	33.000	0,21
Kontrolle ungewelkt	0	880	14.500	0,69
tox. welk durch Fusarinsäure-Asche (5 mg/kg) pH 5,5, 225 mg/kg; 5×10^{-3}mol	2,00	734	8.900	1,13
tox. welk durch Fusarinsäure-Asche (5 mg/kg) pH 5,5, 225 mg/kg; 5×10^{-3}mol	2,38	715	7.400	1,35

Daraus ergibt sich, daß die Steigerung der kutikulären Exkretion bei physiologischer Welke nur gering ist und in der Größenordnung nicht an die Verhältnisse bei toxischer Welke heranreicht. Ein entsprechender Versuch nach dreistündiger physiologischer Welke ergab keine Unterschiede gegenüber ungewelkten Pflanzen, obgleich die sehr empfindlichen Pflanzen bereits vollständig zusammengebrochen waren.

Tabelle 3

Elektrolytischer Widerstand von Blattwaschwässern nach physiologischer Welke der Tomatenblätter

	Welke-Index	Blattfläche (einseitig) cm^2	elektrolyt. Widerstand Ohm	spezif. Leitfähigkeit $10^{-5} \cdot Ohm^{-1}$
Waschwasser vorher	—	—	33.000	0,21
Kontrolle ungewelkt	0	1460	7.020	1,43
Kontrolle physiol. gewelkt 6 h bei 24 °C 65 % r. F. Licht	etwa 4 (aber keine Nekrosen!)	1357	6.400	1,56

KAPITEL II

Der Verlauf des Rekretionsvorganges

Im weiteren Verlauf der Untersuchung war es von Bedeutung, Aufschluß zu erhalten über den Verlauf des Lösungsvorganges der Oberflächentestes erfolgte in der auf S. 92 beschriebenen Weise. Zunächst wurde an- Welke. Dazu bedienten wir uns folgender Meßanordnung: Auf der Blattoberfläche wurde eine Mikro-Meßzelle in Form eines Glasringes von 8 mm Höhe und 7 mm Durchmesser i. L. angebracht, die mit 0,4 ml IA-Wasser zu füllen war. In diese Meßlösung tauchten zwei 4 mm lange Platindrähte mit einem Elektrodenabstand von 0,5 mm ein. Auf diese Weise waren mit Hilfe der Philips-Meßbrücke auf einer Blattfläche von 38,5 mm^2 die Lösungsvorgänge direkt und laufend meßbar.

In diesem Kapitel wurden zu allen Versuchsreihen Tomatensprosse aus einem Klon (Klon HUMM I) verwandt. Dieser wurde durch fortgesetzte vegetative Vermehrung einer sensiblen Pflanze gewonnen und in Wasserkultur (KNOPsche Lösung mit HOAGLAND-Zusatz) gehalten. Auf diese Weise hofften wir die Streuung, die unumgänglich durch genetisch uneinheitliches Material bedingt ist, in einer Hinsicht zu verkleinern.

Die Applikation der Toxinlösungen und die Durchführung des Welketestes erfolgte in der auf S. 92 beschriebenen Weise. Zunächst wurde angegriffen die

3. Versuchsfrage: Wie verläuft der Lösungsvorgang an der Blattoberfläche bei toxisch gewelkten und bei ungewelkten Blättern?

Dazu wurden unsere Mikro-Meßzellen auf Blattoberseiten von vergifteten und unvergifteten Pflanzen angebracht und darin laufend der elektrolytische Widerstand bestimmt. Die sich dabei ergebenden Relativwerte sind in Abhängigkeit von der Zeit (nach Zugabe des Wassers in die Zelle)

in Abb. 9 dargestellt. Es zeigt sich, daß die auf den kutikularen Schichten angereicherten Stoffe sehr schnell in Lösung gehen und daß nach etwa 30 min die Masse in gelöstem Zustand vorliegt: die Widerstandswerte sinken nicht weiter. Beträchtliche Unterschiede sind, wie zu erwarten war, zwischen den Lösungsvorgängen auf ungewelkten und toxisch gewelkten Blattoberflächen vorhanden. Demgegenüber lösen sich auf physiologisch gewelkten Blättern nur wenig mehr Stoffe. Gegen die Methode der Blattoberflächen-Abwaschung kann ein gewichtiger Einwand ge-

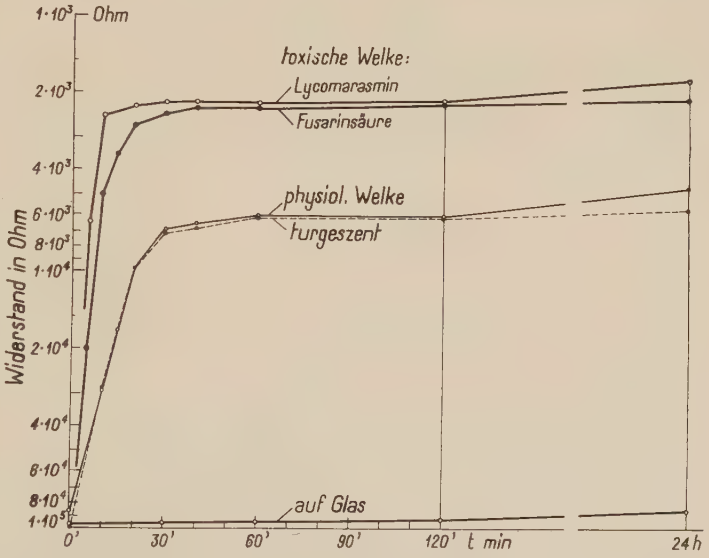


Abb. 9. Der Verlauf des Lösungsvorganges auf der Blattoberfläche der Tomate. Ordinate: elektrolytischer Widerstand in Ohm (logarithmisch). Abszisse: Zeit in min (h) nach Einsetzen des Lösungsvorganges

macht werden: die elektrolytisch wirksamen Substanzen seien Verunreinigungen, die passiv auf die Pflanzen von außen auffallen. Um dies zu prüfen, haben wir einen sauberen Glas-Objektträger vier Tage im Gewächshaus exponiert und sodann mit gleicher Meßanordnung den Lösungsvorgang bestimmt. Die erhaltene Kurve ist ebenfalls in Abb. 1 eingetragen. Es ist aus dieser zugleich der geringe Lösungsvorgang von Ionen aus den Glaswänden ersichtlich. Er liegt jedoch in einer Größenordnung, die die Resultate der anderen Messungen nicht verfälscht.

Nunmehr versuchten wir das Erscheinen der osmotisch wirksamen Substanzen auf den Blattoberflächen bei toxigener Welke zu ermitteln. So ergibt sich die

4. Versuchsfrage: Wann kann auf der Oberfläche toxisch welkender Blätter zuerst eine erhöhte Rekretion wahrgenommen werden?

Die Versuchsanordnung bleibt die gleiche, wie vorher beschrieben. Meßzellen wurden auf je einem Fiederblatt von zwei Sprossen angebracht, von denen der eine mit Versuchsbeginn in eine 5×10^{-3} molare Lycomarasminlösung pH 6,5 tauchte. Während der Nacht wurden die Meßzellen zur

Vermeidung von Verdunstungsverlusten mit Deckgläsern verschlossen. Die Meßresultate als Widerstandswerte sind in Abb. 10 graphisch dargestellt. während das Kontrollblatt (ungewelkt) nach Beendigung des Lösungsvorganges (nach etwa 30 min) auf einen fast konstanten Wert eingestellt blieb, stieg er auf der Oberfläche des vergifteten Blattes auch nach einer Stunde stetig an und war nach zwei Stunden schon größer als die Kontrolle. Der

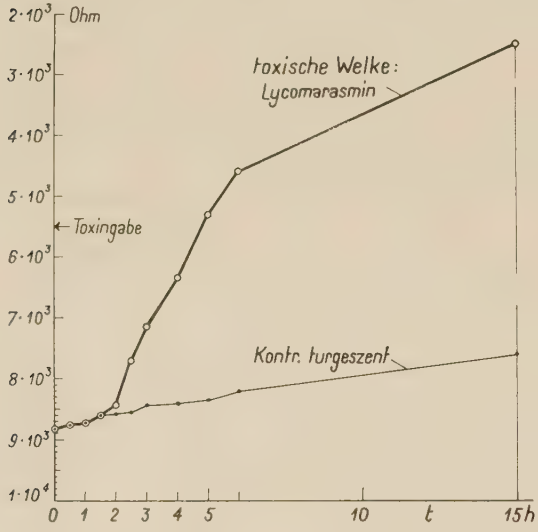


Abb. 10. Der Lösungsvorgang auf der Blattoberfläche der Tomate in Abhängigkeit von der Zeit nach Toxingabe. Ordinate: elektrolytischer Widerstand in Ohm. Abszisse: Zeit in h nach Einstellen des Sprosses in Toxin-Lösung

Anstieg ist im Verlauf von 14 Stunden fortschreitend. Der Verlauf läßt auf einen reinen Diffusionsvorgang in den Kutikularschichten und Wänden des Blattes schließen. Zur Sicherung der beobachteten Unterschiede wurden auf weiteren Blättern sechs Stunden nach Einstellen in die Lycomarasminlösung, also v o r Erscheinen der Welkesymptome (die sich erst nach etwa zehn bis zwölf Stunden zeigen), Messungen durchgeführt. Sie sind in Tabelle 4

Tabelle 4

Elektrolytischer Widerstand auf Blattoberflächen in Mikro-Meßzellen. 6 Stunden nach Einbringen in Lycomarasmin 5×10^{-3} mol

	Elektrolytischer Widerstand in Ohm						Mittel
Kontrolle ungewelkt	10.050	9.990	8.720	8.900	8.010	12.100	9.628
Lycomarasmin-gewelkt	5.090	4.770	6.520	6.300	4.820	5.100	5.433

zusammengestellt und zeigen, daß die erhöhte Ausscheidung elektrolytisch wirksamer Substanzen durch Kutikulartranspiration bereits zu einem Zeitpunkt festzustellen ist, der vor der Ausbildung der Krank-

heitssymptome liegt. Die Welke ist also eine Folge der Schädigung der semipermeablen Grenzschichten für gelöste Stoffe.

Im Laufe dieser Meßreihen ließ sich auch beobachten, daß der Vorgang verstärkter Rekretion auf den Blättern auch an solchen Ausschnitten der Oberfläche stattfindet, die später keine makroskopisch sichtbaren Nekrosen aufweisen. Die Ausbildung der Nekrose ist also Folge, nicht Voraussetzung für den gesteigerten Rekretionsprozeß.

Weiterhin konnte beobachtet werden, daß das Benetzungsverhalten der toxingeschädigten Blätter sich ändert; die Benetzbarkeit gegenüber der Kontrolle wird größer. Damit ist ein weiterer Hinweis für die an anderer Stelle aufgestellte Theorie von der Verseifung der lipophilen Oberflächenschichtung und die Ausbildung eines dipolaren Oberflächenfilmes in Verbindung mit der Rekretion gegeben (Linskens 1952).

KAPITEL III

Die Natur der Blattrekrete bei toxigenem Welken

Aus den Analysen von Lausberg (1935) geht hervor, daß die normalerweise zu gewinnenden Blattrekrete Ionen enthalten, ein beträchtlicher Teil jedoch organischer Natur ist, in dem Arens (1934) Phosphorlipoide wahrscheinlich machen konnte. Wir untersuchten daher Waschwasser von toxisch gewelkten Pflanzen und kommen damit zu der

5. Versuchsfrage: In welcher Richtung ändert sich die Ionenzusammensetzung im Blattrekret toxisch welkender Blätter?

Um gut meßbare Konzentrationen zu erhalten, wurde eine größere Anzahl Sprosse abgewaschen und das Waschwasser eingeengt. Die quantitative Bestimmung erfolgte mit dem Flammenphotometer des Analytisch-chemischen Institutes der ETH[1]), das aus einem Hilger-Spektroskop und einer Spezialfotozelle (entwickelt von der Abteilung für Industrielle Forschung der ETH) besteht, in der Wasserstoff-Sauerstoff-Flamme. Das Waschwasser mußte für die flammenphotometrische Analyse in folgender Weise vorbereitet werden: Eindampfen des Waschwassers bis zur Trockne auf dem Wasserbad, Versetzen des Rückstandes mit konz. HCl (p. a.) und H_2O_2, auf dem Wasserbad erneut eindampfen. Diese Manipulation wird fünfmal wiederholt und der Rückstand jeweils zwischendurch 15 min geglüht. Sodann wird der Rückstand in Wasser aufgenommen und über Glaswatte (p. a.) filtriert und auf 10 ml aufgefüllt. Alle Arbeitsgänge in dieser und der folgenden Versuchsreihe wurden ausschließlich mit Ionenaustauscher-Wasser durch-

[1]) Für die Ausführung der Analysen danke ich Herrn M. Jösler (Analytisch-chemisches Institut der ETH Zürich) bestens.

geführt. Die Waschwässer wurden in 2-Liter-Plastikgefäßen gewonnen, die Aufarbeitung erfolgte in Platintiegeln. In den Tabellen 5 und 6 sind neben den gefundenen absoluten Mengen auch die Werte umgerechnet auf je 100 cm² Blattfläche aufgeführt.

Aus den beiden Analysen ergibt sich, daß gegenüber der ungewelkten Kontrolle von den toxisch gewelkten Blättern ein Vielfaches der Ionenmenge ausgeschieden wird. Dies ist in beiden Versuchsgruppen einheitlich und übereinstimmend. Offensichtlich ist die Menge der rekretierten Substanz außerdem vom Welkezustand abhängig: je stärker die Pflanzen gewelkt sind, um so größer ist die ausgeschiedene Rekretmenge. Auch das Verhältnis der Einzelionen zueinander ist verschoben. Daraus

Tabelle 5

Zusammensetzung der Asche von Waschwässern der Blätter. Flammenphotometrische Bestimmung (1. Analyse)

	Welke-Index	Fläche cm²	gefundene Mengen absolut in mg			je 100 cm² Blattfl. in mg		
			Na	K	Ca	Na	K	Ca
Kontrolle unbeh.	0	186	0,04	0,02	0,1	0,021	0,0106	0,053
tox. welk durch Lycomarasmin pH 6,5 5×10^{-3}, 300 mg/kg	2,61	120	0,12	0,26	0,57	0,10	0,216	0,47
tox. welk durch Fusarinsäure pH 6,5 5×10^{-3}, 250 mg/kg	1,84	114	0,92	3,9	0,43	0,81	3,45	0,38

Tabelle 6

Zusammensetzung der Asche von Waschwässern der Blätter. Flammenphotometrische Bestimmung (2. Analyse). Pflanzen: Klon HUMM I.

	Welke-Index	Fläche cm²	Gesamt-Asche mg	gefundene Mengen absolut in mg			je 100 cm² Blattfl. in mg		
				Na	K	Ca	Na	K	Ca
Kontrolle unb.	0	1598	3,6	23,0	0,53	0,70	1,46	0,033	0,042
tox. welk durch Lycomarasmin pH 6,5; 5×10^{-3} 300 mg/kg	3,5	669	24,1	96,0	7,8	12,8	14,4	1,17	1,92
tox. welk durch Fusarinsäure pH 6,5 5×10^{-3} 250 mg/kg	2,22	632	22,8	71,3	9,6	32,8	11,3	1,52	5,20
Kontrolle Glasfläche (paraffiniert) exponiert	—	400	0,05	0,03	0,07	0,006	0,007	0,017	0,0015

möchten wir den Schluß ziehen, daß die selektive Permeabilität der Protoplasten der Blattzellen unter dem Einfluß der Welketoxine entscheidend gestört ist.

In der zweiten Analyse (Tabelle 6) haben wir nochmals eine größere Glasfläche vier Wochen im Gewächshaus exponiert und im Vergleich die gewonnenen Waschwässer davon ebenfalls bestimmt. Auch hier zeigt sich, daß der durch atmosphärische Verunreinigungen entstehende Fehler die Richtung der anderen Ergebnisse nicht entscheidend beeinflussen kann. — Die aufgefundenen Ionenmengen stellen jedoch nur einen Bruchteil der Trockenrückstände der Waschwässer dar. Wir versuchten daher, Einblick in die Zusammensetzung der organischen Bestandteile mit den Methoden der Papierchromatographie zu bekommen. Somit kommen wir zur

6. Versuchsfrage: Wie ändert sich die Aminosäurenausscheidung der Tomatenblätter bei toxischer Welke?

In zwei Versuchsreihen prüften wie die Aminosäurenausscheidung von toxisch welkenden Blättern quantitativ, nachdem in Vorversuchen deren Vorhandensein festgestellt worden war. Proben des Rückstandes wurden mit Wasser aufgenommen und auf Whatman-I-Papier absteigend in Butanol-Eisessig-Wasser (4 : 1 : 5) getrennt. Nach Identifizierung mit 0,05%iger Ninhydrinlösung wurden die Flecken eluiert, mit 0,5 % Ninhydrin zu Ende entwickelt und kolorimetriert (Lumetron). Ausführliche Methodendarstellung siehe Linskens (1955). Die identifizierten Aminosäuren

Tabelle 7

Aminosäurenausscheidung von Tomatenblättern in Waschwasser, Eintauchdauer 30 min. Gefundene Mengen in Gamma auf 100 cm² Blattfläche umgerechnet. 1. Analyse

	Kontrolle unbehandelt	tox. welk durch Lycomarasmin $2{,}5\times10^{-3}$ pH 6,5 225 mg/kg Welkeindex 1,97	tox. welk durch Fusarinsäure 5×10^{-3} pH 7,0 225 mg/kg Welkeindex: 2,51
Glykokoll	29,0	88,0	69,0
Alanin	15,4	31,8	29,8
Serin	11,8	34,8	46,2
Glutaminsäure	6,7	11,0	18,4
Prolin	7,4	40,7	32,0
Thyrosin	9,2	23,6	21,2
Leucin	11,2	52,8	45,5

sind in den Tabellen 7 und 8 zusammengestellt; die Verschiebung der einzelnen Komponenten ist in der Abb. 11 graphisch dargestellt. Dabei ist die Gesamtmenge der identifizierten Aminosäuren = 100 gesetzt, so daß sich die Änderungen als prozentuale Verschiebungen ergeben. — Außer den in den Tabellen aufgeführten Komponenten wurden noch vier weitere ninhydrinpositive Substanzen gefunden, die nicht mit den vorliegenden Ver-

gleichssubstanzen identifiziert werden konnten. Da diese Flecken am Startpunkt des Chromatogrammes bzw. in dessen Nähe verblieben, besteht die Möglichkeit, daß es sich dabei um Peptide handelt. — Bei einer der beiden Analysen wurde in den Ausscheidungen nach Lycomarasmin-Welke sicher ein Methionin-Fleck gefunden, der bei dem entsprechenden Fusarinsäure-Waschwasser nicht nachweisbar war.

Aus den dargelegten Werten ist ersichtlich, daß als Folge der Toxinvergiftung, 48 Stunden nach Einstellen der Tomatensprosse

Tabelle 8

Aminosäurenausscheidung von Tomatenblättern in Waschwasser, Eintauchdauer 30 min. Gefundene Mengen in Gamma auf 100 cm² Blattfläche umgerechnet. 2. Analyse

	Kontrolle unbehandelt	tox. welk durch Lycomarasmin $2{,}5\times10^{-3}$ pH 6,5 250 mg/kg Welkeindex: 2,19	tox. welk durch Fusarinsäure 5×10^{-3} pH 7,0 225 mg/kg Welkeindex: 2,40
Glykokoll	25,2	106,0	100,0
Alanin	12,0	38,0	27,2
Serin	16,0	39,0	61,4
Glutaminsäure	7,6	16,2	16,4
Prolin	6,0	21,0	22,6
Thyrosin	12,4	26,8	25,6
Leucin	11,8	39,6	44,0

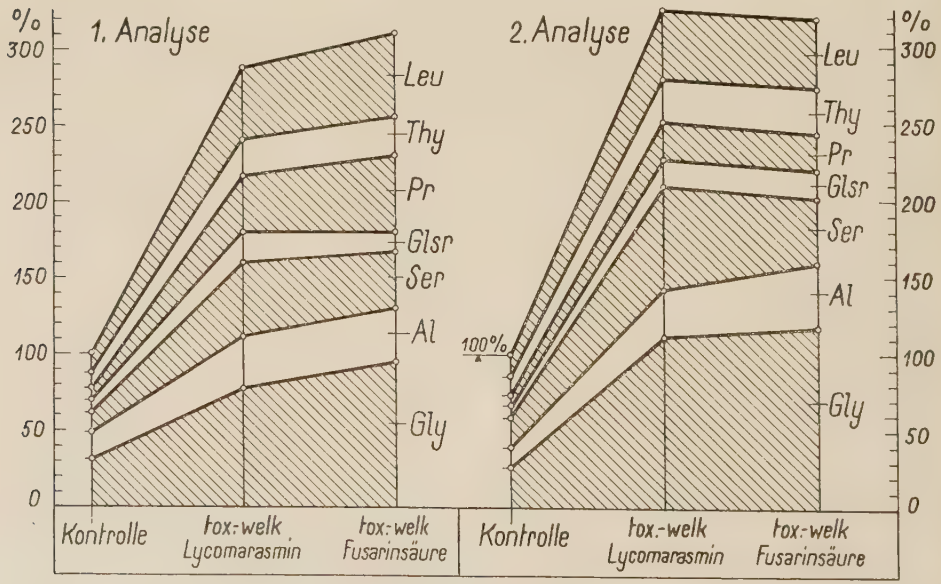


Abb. 11. Die prozentuale Zusammensetzung der Blattausscheidung von Tomatenblättern an identifizierten Aminosäuren von Kontrollen, nach toxigener Welke durch Lycomarasmin und nach toxigener Welke durch Fusarinsäure. 2 Analysen. Absolute Werte siehe Tabelle 7 u. 8

in die Toxinlösungen, eine beträchtliche Steigerung der Ausscheidung von freien Aminosäuren zu verzeichnen ist. Sie liegt in der Größenordnung zwischen 200 und 500 %. Unterschiede zwischen den lycomarasminvergifteten und fusarinsäurevergifteten Pflanzen sind im Bereich der Versuchsfehler nicht sicherzustellen.

In gleicher Weise untersuchten wir die Ausscheidungen der Blätter in Waschwässern auf freie Zucker. In drei Versuchsreihen konnten wir weder mit Benzidin noch mit alkalischer Silbernitratlösung und Anilinhydrophthalat auf den Chromatogrammen freie Zucker nachweisen. Falls sie in den Blattausscheidungen der Tomaten vorhanden sein sollten, so liegen sie in einer Menge vor, die unterhalb der Nachweisgrenzen liegt.

Besprechung der Ergebnisse

Die vorstehend dargestellten Versuchsergebnisse zeigen, daß in der Kausalkette, die bei toxigenem Welken zur manifesten Erkrankung führt, die ersten Glieder in einer Störung der Plasmagrenzschichten beruhen. Die physikalisch-chemischen Voraussetzungen für die Aufrechterhaltung des Turgors werden aufgehoben: aus den Zellen treten Wasser und gelöste Bestandteile in die Wasserlamellen des Transpirationsstromes. Da die kutikulare Transpiration weitergeht, kommt es auf den Blattoberflächen zu einer Anhäufung von Transpirationsrückständen (Kapitel I).

Unter der Wirkung der Welketoxine kommt es sehr schnell auch zu einer Störung der Salzpermeabilität. Sie tritt vor der Ausbildung von Welkesymptomen auf. Die beobachtete Permeabilitätsänderung muß daher zu Anfang der Kausalkette der Welkeerscheinung liegen (Kapitel II). Daß bei den kutikulär ausgeschiedenen Stoffen Salze gefunden werden, überrascht nicht so sehr, da wohl kein Protoplast so dicht abschließt, daß er nicht durch Diffusion Ionen an das Imbibitionswasser der Zellwände verlöre. Schon eine geringe Schädigung der Grenzschichtenpermeabilität muß daher in der Rekretion ihren Niederschlag finden. Von Interesse ist jedoch die sehr stark erhöhte Ausscheidung von freien Aminosäuren. Freie Aminosäuren liegen im Plasma nicht in sehr großer Menge vor. Es muß daher daran gedacht werden, daß es unter dem Einfluß der Toxine auf das Plasma auch zu einer partiellen Lyse der Proteine kommen kann, zumal auch größere Bruchstücke (Peptide) in den Ausscheidungen wahrscheinlich gemacht werden konnten (Kapitel III).

Die erhöhte Ausscheidung kann nicht allein durch die in der zweiten Phase der Giftwirkung beobachtete temporäre und kurzfristige Übersteigerung der Transpiration zustande kommen. Einmal ist sie so kurzfristig, daß sie zur Erklärung der Rekretionserhöhung nicht ausreicht; zum anderen wird

die erhöhte Ausscheidung auch dann noch beobachtet, wenn bereits eine Lähmung der Transpiration eingetreten ist. Auch sind die beobachteten Rekretionserhöhungen nicht erst bedingt durch Abbauprodukte abgestorbener Zellen: sie können ja schon beobachtet werden, wenn auf den Blättern noch keine sichtbaren Schäden zu erkennen sind. Sie können weiterhin auch registriert werden, wenn die Messung auf Blattpartien erfolgt, die bei niedrigem Welkeindex auch bei fortschreitender Welke keine Nekrosen aufweisen.

Wir haben es bei den beobachteten Vorgängen mit Teilen einer echten antitoxischen Abwehrreaktion zu tun (GÄUMANN 1952, BLOCH 1953), bei der es zu einer Elimination der nekrogenen Abbaustoffe aus den wirtseigenen lädierten Zellen und Geweben kommt. Nunmehr wäre es natürlich interessant festzustellen, ob mit dem Guttationswasser oder bei der Blutung es auch zur Ausscheidung der toxischen Stoffe des Erregers kommt.

Nachdem also durch unsere Messungen die Vorstellungen von GÄUMANN und JAAG (1947) entscheidend gestützt werden konnten, wonach in der Kausalkette der Welkewirkung sehr früh die Semipermeabilität der Plasmagrenzschichten zerstört wird, bleibt die Frage offen, auf welche Weise dies geschieht. Der lebende Protoplast hält seine Permeabilität unter Aufwand von Energie aufrecht. Es bleibt also nunmehr zu untersuchen, ob es in den Frühstadien der toxischen Welke zu Atmungsstörungen kommt. Die wenigen Angaben von KALYANASUNDARAM (1952) über den Gehalt an reduzierenden Zuckern in *Fusarium*-infizierten Pflanzen lassen erkennen, daß es unter dem Einfluß des Parasiten zu Änderungen im Gehalt an primärem Atmungssubstrat sowie der Ascorbinsäure kommt. Daher sollten auch Störungen des Fermenthaushaltes zu finden sein. An dieser Stelle wären dann auch die Ansätze für die aufgefundene Chelat-Wirkung der Welketoxine (GÄUMANN und NAEF-ROTH 1954 a, b) zu suchen.

Analoge Vorgänge zu den Veränderungen der Ausscheidungen unter dem Einfluß von Infektionen sind aus der Humanmedizin bekannt. So kann der erfahrene Kliniker eine Grippe von anderen Infektionskrankheiten an den flüchtigen Ausscheidungen beim Betreten des Krankenzimmers unterscheiden (SCHAEPPI 1954). Die früher beobachteten Menotoxine stellen ein weiteres Beispiel für die Änderung der Ausscheidungen unter dem Einfluß der geänderten innerphysiologischen Zustände dar (LANZOS 1930, MANDELSTAMM-TSCHAIKOWSKY-BONDARENKO 1933, NAGY 1934).

Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Die Blattausscheidungen der Tomate sind bei toxigener Welke durch Lycomarasmin und Fusarinsäure, gemessen als elektrolytischer Widerstand des Waschwassers, stark erhöht.

2. Der Verlauf des Ausscheidungsvorganges konnte an der Blattoberfläche direkt erfaßt werden. Dabei zeigte sich, daß die erhöhte Rekretion vor dem Erscheinen der Welkesymptome und auch an Orten fehlender Nekrosebildung auftritt.
3. In der durch die toxigene Welke bedingten erhöhten Menge der Blattausscheidungen konnten sowohl Salzionen (Ca, K, Na) als auch freie Aminosäuren nachgewiesen werden.
4. Der Nachweis einer Erhöhung der Rekretion durch toxigen welkende Blätter stützt die Theorie von GÄUMANN, wonach die primäre Ursache der irreversiblen pathologischen Welke in einer Schädigung der Permeabilität der Plasmagrenzschichten zu suchen ist.

Vorliegende Untersuchung wurde während eines Forschungsaufenthaltes an der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich durchgeführt, der durch ein Stipendium des Battelle Memorial Institutes (International Division, Genf) und des Präsidenten des Schweizerischen Schulrates, Prof. Dr. PALLMANN, ermöglicht wurde. Für die großzügige Förderung spreche ich an dieser Stelle meinen besten Dank aus. Herrn Prof. E. GÄUMANN danke ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes im Institut für Spezielle Botanik der ETH und wohlwollende Aufnahme in seinen Mitarbeiterkreis.

Literaturverzeichnis

ARENS, K.: Die kutikuläre Exkretion des Laubblattes. Jb. wiss. Bot. **80**, 248, 1934.

BLOCH, R.: Defense reactions of plants to the presence of toxins. Phytopathology **43**, 351, 1953.

ENGEL, H.: Das Verhalten der Blätter bei Benetzung. Jb. wiss. Bot. **88**, 816, 1939.

GÄUMANN, E.: Pflanzliche Infektionslehre, Basel 1952².

— —, VON ARX, A.: Antibiotika als pflanzliche Plasmagifte II. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **57**, 174, 1947.

— —, JAAG, O.: Über das Problem der Welkekrankheiten bei Pflanzen. Experientia **2**, 1, 1946.

— —, — —: Die physiologischen Grundlagen des parasitogenen Welkens. I. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **57**, 3, 1947 a. II. **57**, 132, 1947 b. III. **57**, 227, 1947 c.

— —, — —: Über das toxigene und das physikalisch induzierte Welken. Phytopath. Z. **16**, 226, 1950.

— —, — —, BRAUN, R.: Antibiotica als pflanzliche Plasmagifte I. Experientia **3**, 70, 1947.

— —, NAEF-ROTH, ST.: Über die chelierende Wirkung einiger Welketoxine. I. Phytopath. Z. **21**, 349, 1954. II. Phytopath. Z. **23**, 1954.

Gäumann, E., Naef-Roth, St., Reusser, P., Ammann, A.: Über den Einfluß einiger Welketoxine und Antibiotika auf die osmotischen Eigenschaften pflanzlicher Zellen. Phytopath. Z. **19**, 160, 1952.

Kalyanasundaran, R.: Ascorbic acid and Fusarium wilted plants. Proc. Indian Acad. Sci. **36**, 102, 1952.

Lánzos, A.: Zur Frage des Menotoxins. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **156**, 117, 1930.

Lausberg, Th.: Quantitative Untersuchungen über die kutikulare Exkretion des Laubblattes. Jb. wiss. Bot. **81**, 769, 1935.

Linskens, H. F.: Über die Änderung der Benetzbarkeit von Blattoberflächen und deren Ursache. Planta **41**, 40, 1952.

— —, Physiologische Untersuchungen der Pollenschlauchhemmung selbststeriler Petunien. Z. Bot. **43**, 1, 1955.

Mandelstamm, A., Tschaikowsky, W., Bondarenko, G.: Experimentelle Untersuchungen zur Frage des Menotoxins. Arch. Gynäkol. **154**, 636, 1933.

Nagy, A.: Wien. med. Wschr. **84**, 725, 1934.

Schaeppi, Th.: Schweiz. Rdsch. f. Med. **39**, 1126, 1954.

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

Zwei neue *Ustilagineae* auf afrikanischen *Eriocaulaceae*

Von

Emil Müller

Mit 1 Abbildung

Vor einiger Zeit übergab mir mein Freund, Herr Dr. H. Hess, einige brandkranke Pflanzen, die ihm bei seiner Bearbeitung der von ihm gesammelten afrikanischen *Eriocaulaceae* aufgefallen waren. Ich möchte ihm für diese Aufmerksamkeit herzlich danken.

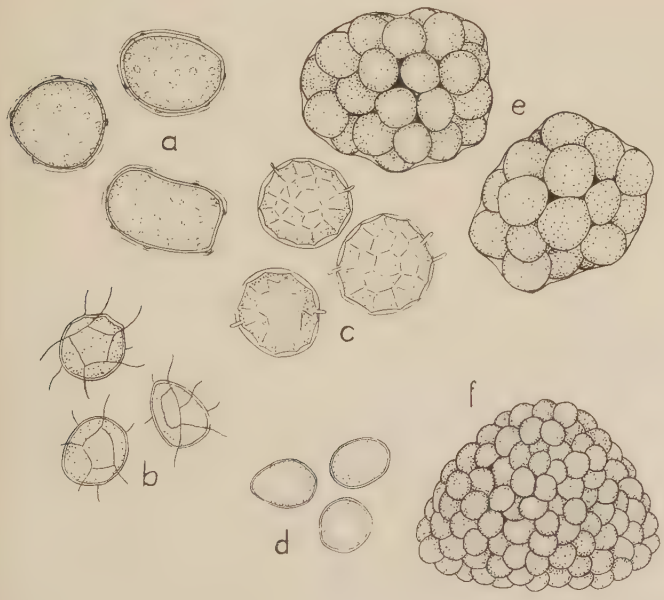


Abb. 1. Chlamydosporen von

a) *Ustilago eriocauli,*

b) *Tolyposporium eriocauli,*

c) *Tolyposporium Hessii,*

d) *Sorosporium mesanthemi* alle Vergr. 1000×

Sporenballen von

e) *Tolyposporium Hessii,*

f) *Sorosporium mesanthemi* Vergr. 500×

Bis heute sind zwei *Ustilagineae* beschrieben worden, die auf *Eriocaulaceae* parasitieren: *Ustilago eriocauli* (Mass.) Clint. und *Tolyposporium eriocauli* Clint. Beide Pilze befallen die Blüten von *Eriocaulon septangulare* With. in Amerika, *Ustilago eriocauli* überdies in Madagaskar auch *Eriocaulon*

tenestratum Boi. Beide bekannten Arten fanden sich im bearbeiteten Material, dazu kommen nun noch je eine Art aus den Gattungen *Tolyposporium* Wor. und *Sorosporium* Rud.

1. *Ustilago eriocauli* (Mass.) Clint.

Ustilago eriocauli wurde zuerst von Massee (1894) aus Madagaskar als *Cintractia eriocauli* beschrieben. Später, nachdem er seinen amerikanischen Fund zunächst als neu beschrieben hatte (1901), stellte Clinton (1902) den Pilz zu *Ustilago* (vgl. auch Fischer, 1953). Im bearbeiteten Material fand sich nun in den Blüten von *Syngonanthus Welwitschii* (Rendle) Ruhl. ebenfalls eine *Ustilago*-Art. Diese läßt sich aber morphologisch nicht von *Ustilago eriocauli* trennen; ob eine biologische Differenzierung vorliegt, ist am getrockneten Material nicht mehr festzustellen. Der Pilz wurde neuerdings von Fischer (1953) sehr gut beschrieben, so daß sich weitere Angaben erübrigen.

Fundort: Angola, Provinz Huila, am Schienbein des Rio Nene bei Humpata, Höhe 1920 m.s.m. 20. Mai 1952, leg. H. Hess sub. Nr. 52 1858 a.

2. *Tolyposporium eriocauli* Clint.

Der zweite von Clinton (1901) beschriebene *Eriocaulaceae*-Brand, *Tolyposporium eriocauli*, konnte nun auch auf afrikanischem Material von *Eriocaulon vittifolium* H. Lec. festgestellt werden. Der mir vorliegende Pilz stimmt gut mit der Diagnose und den ausgezeichneten Abbildungen bei Fischer (1953) überein.

Fundorte: Französisch Guinea: Kindia, leg. Roberty, Nr. 10 747, 14. Februar 1948.
Kindia, leg. A. Chevalier, Nr. 12 787.

3. *Tolyposporium Hessii* nov. spec.

In den Blüten von *Eriocaulon lanatum* H. Hess parasitiert eine weitere Art der Gattung *Tolyposporium*, die von *Tolyposporium eriocauli* Clint. deutlich verschieden ist. Die Sporenballen sind kleiner, meist mehr oder weniger rundlich oder ellipsoidisch, heller braun und aus viel weniger Sporen zusammengesetzt. Die Sporen sind durchschnittlich größer, das bei *Tolyposporium eriocauli* auffallende Netzwerk fehlt, dafür besitzt das Epispor eine deutlich netzige Struktur und ist mit wenigen, aber auffallenden Dornen besetzt. Der Pilz sei nachstehend beschrieben:

Sori nigri, ovaricolii; sporarum glomerulis brunneis, sphaericis vel subsphaericis, 40—70 μ diam., fere e 20—40 sporis compositis. Sporae fuscae, plus minusve globosae, 10—15 μ diam., episporio crasso, minute echinulato, tegumento hyalino.

Hab. in ovariis Eriocauli lanati H. Hess. — Africa, Angola, Provinz Bié, Baixo Cubango, 30 km, nordlich Cuemdo am Rio Cuito, 1250 m.s.m. 6. Februar 1952, leg. H. Hess, *sub. Nr. 52 640.*

Die Sori erfüllen die gesamten zerstörten Blüten, setzen sich aus 40—70 μ großen kugeligen oder ellipsoidischen, braunen, aus 20—40 Sporen bestehenden Sporenballen zusammen. Die Einzelsporen sind kugelig, 10—15 μ groß, bräunlich und besitzen ein ziemlich dickes Epispor. Dieses ist mit einem deutlichen Netzwerk skulpturiert, mit wenigen kleinen Dornen besetzt und von einer schmalen Schleimhülle umgeben.

4. *Sorosporium mesanthemi* nov. spec.

Der auf *Mesanthemum radicans* Körn. vorkommende Brandpilz besitzt ebenfalls Sporenballen, welche aber leicht auseinanderfallen. Er gehört in die Gattung *Sorosporium* Rud. und sei nachstehend beschrieben:

Sori inflorescentiam totam destruentes, nigris. Glomerulis sporarum brunneis, ellipsoideis vel obovatis vel angulosis irregulari busque, 50—70 μ diam., e sporis numerosis compositis; Sporae globosae vel obovatae, 7—9 μ diam. fuscae, episporio levis crassiuscudo.

Hab. in floribus Mesanthemi radicans Korn. — Africa, Angola, Provinz Bié, Baixo Cubango, 176 km NW Cuangar, 1070 m. ü. m. 29. Januar 1952, leg. H. Hess *sub. Nr. 52/514 et 61 km südl. Caiundo, 1160 m. ü. m. 4. Februar 1952, leg.* H. Hess, *sub. Nr. 52/614.*

Die Sporenlager erfüllen die ganze zerstörte Blüte. Sie setzen sich zusammen aus ellipsoidischen, eiförmigen, oft auch verlängerten oder ganz unregelmäßigen, 50—70 μ großen, sehr zahlreiche Sporen enthaltenden Sporenballen. Die leicht auseinanderfallenden Einzelsporen sind kugelig oder eiförmig, 7—9 μ groß und besitzen ein nur schwach verdicktes Epispor ohne Struktur.

Literaturverzeichnis

Clinton, G. P.: Two new smuts on *Eriocaulon septangulare*. Rhodora. 3, 79—82. 1901.

— —: North American Ustilagineae. J. Myc. 8, 128—156, 1902.

Fischer, G. W.: Manual of the North American smut fungi. 343 S. The Ronald Press Comp. New York. 1953.

Hess, H.: Beiträge zur Eriocaulaceenflora von Angola und dem unteren Kongo. Ber. Schweiz. Bot. Ges. 65, (im Druck), 1955.

Massee, G.: Exotic Fungi. Grevillea 22, 67, 1894.

Besprechungen

Bünning, E.: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze. Lehrbuch der Pflanzenphysiologie. 2. u. 3. Band. 3. Aufl. Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1953.

In der Neuauflage des bewährten Lehrbuches ist die Grundeinteilung der 2. Auflage beibehalten worden, die zur Charakterisierung des Inhaltes angeführt werden soll: 1. Grundfragen, 2. Aktivitätswechsel, 3. Wachstum, Zell- und Kernteilung, 4. die inneren Faktoren der Differenzierung, 5. die Bewegungsmechanismen, 6. die Wirkung äußerer Reize auf Bewegung und Entwicklung. Die einzelnen Teile haben aber eine gründliche Überarbeitung erfahren und sind überall auf den neuesten Stand der Forschung gebracht worden. Dies gilt besonders für die dem engeren Arbeitsgebiet des Autors zugehörenden Abschnitte, so für „die inneren Faktoren der Differenzierung". Dieser Teil hat eine wesentliche Erweiterung erfahren. In diesem Abschnitt tritt aber auch die stark spekulative Behandlung des Stoffes besonders deutlich hervor. Das Buch erhält dadurch eine sehr persönliche Note und ist ungemein anregend für den Eingeweihten. Für den Studenten sollte aber doch eine etwas schärfere Trennung des bereits gesicherten Wissens und des rein Spekulativen durchgeführt werden. Seiner ganzen Anlage nach ist das Buch sowieso mehr für den fortgeschrittenen und mit der Materie schon etwas vertrauten Studenten gedacht. Es bleibt nur zu wünschen, daß in der Lehrbuchreihe des Verlages recht bald eine allgemeine Stoffwechselphysiologie (Bd. I, Teil 1) mit einem entsprechenden Niveau erscheint.

H. Drawert, Berlin-Dahlem

Girbardt, M.: Pflanzenwuchsstoffe. Die neue Brehm-Bücherei Heft 125. A.-Ziemsen-Verlag, Wittenberg 1954. 47 S., 26 Abb. 2,25 DM.

Der Verf. hat, wie er im Vorwort sagt, das „Wagnis" unternommen, den ganzen Fragenkreis um die Pflanzenwuchsstoffe für Laien und Liebhaber ohne alle Vorkenntnisse auf rund 40 Seiten darzustellen. Dieser Versuch ist ihm, soweit das überhaupt auf dem beschränkten Raum möglich ist, gelungen. Natürlich können überall nur die Hauptpunkte angedeutet werden, aber das Ziel, das sich der Verf. gesetzt hat, dem Laien „einen Einblick in moderne Forschungsmethoden zu vermitteln und die wissenschaftlichen Bereiche lebendig werden zu lassen", hat er mit seiner klaren und anschaulichen Darstellung, die aber überall mit sicherem Griff das Wesentliche hervorhebt, durchaus erreicht. Das Hauptgewicht liegt auf der biologischen Bedeutung der Wuchsstoffe für die Pflanze, doch werden auch kurz die wichtigsten Anwendungen der synthetischen Wuchsstoffe für Stecklingsbewurzelung, Verhütung des vorzeitigen Fruchtfalles und Unkrautbekämpfung erwähnt.

H. Söding, Hamburg

Schramm, G.: Die Biochemie der Viren. (Organische Chemie in Einzeldarstellungen, Band 5.) Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1954. 276 S., 67 Abb. In Leinen geb. 36,— DM.

Dieses Werk eines unserer bekanntesten Biochemiker vermittelt dem Leser weit mehr, als der Buchtitel vermuten läßt. Neben den durch eigene Forschungen des Autors wesentlich vertieften Kenntnissen über die Biochemie der Viren werden die chemischen und physikalischen Methoden der Darstellung und Charakterisierung besprochen und die als

Krankheitserreger bekannt gewordenen Viren hinsichtlich ihrer Morphologie und verschiedener anderer Eigenschaften, z. B. ihres epidemiologischen und immunologischen Verhaltens ausführlich behandelt. So kann man das Buch über seine spezielle Themastellung hinaus mit gutem Recht als ein gedrängtes Kompendium des derzeitigen Standes der Virusforschung bezeichnen. Jedenfalls ist die vom Autor ausgesprochene Absicht, unter übergeordneten biochemischen Gesichtspunkten eine Querverbindung zwischen den an der Virusforschung beteiligten Fachwissenschaften, der Human- und Veterinärmedizin, der Phytopathologie, Entomologie, Mikrobiologie, Biochemie und Biophysik herzustellen, voll erreicht. Den Vertretern all dieser Disziplinen kann deshalb das Studium dieses neuen Beitrages zur Virusliteratur als äußerst nützlich empfohlen werden. Der vom Autor in der Einleitung ausgesprochene Zweifel, ob der Leser nach Durchsicht des Buches der von Bawden ausgesprochenen Meinung beipflichten würde, daß auch heute noch das Wort Virus in weitem Umfange als ein bequemer Mantel für Unwissenheit anzusehen sei, dürfte dann bei allen genannten Fachgenossen von der Gewißheit abgelöst sein, daß in dieser vielfach noch schwimmenden Materie doch schon viele recht feste Ankerpunkte gefunden sind. Daneben bleibt allerdings trotz der Fülle und der sinnvollen Verknüpfung der in den letzten eineinhalb Jahrzehnten neu gewonnenen Einzelergebnisse der Eindruck, daß zur Erreichung entscheidender Fortschritte die Virusforschung in ein ähnlich neues Stadium kommen sollte, wie es aus den Erkenntnissen Stanleys, der Entwicklung der Elektronenmikroskopie und der physikalisch-chemischen Darstellungs- und Differenzierungsmethoden folgte. Der Leser wird zu der Einsicht geführt, daß nur durch genaue Kenntnis des Aufbaues und der chemischen Eigenschaften der Viren, also durch eine intensivierte biochemische Forschung, die so notwendigen weiteren Einblicke in die Wirkungen der Viren zu erwarten sind, daß aber rein biologische Betrachtungen hier nicht zum Ziele führen können.

Über diese allgemeine Wertung hinaus sei dem Charakter dieser Zeitschrift entsprechend für den Phytopathologen besonders bemerkt, daß der speziellen Betrachtung von Pflanzenviren 51 Seiten mit zahlreichen, vorwiegend elektronenmikroskopischen Abbildungen gewidmet sind. Neben dem Tabakmosaikvirus, das wegen seiner intensiven und vielseitigen Bearbeitung für zahlreiche Eigenschaften der Viren, wie Größe und Gestalt, biologisches und chemisches Verhalten, chemische Zusammensetzung, elektrochemische Eigenschaften, serologische Eigenschaften, inneren Aufbau, Neigung zu Mutation und Variation und damit verbundenen strukturellen Änderungen des Aufbaues, ein besonders geeignetes Beispiel bietet, wird eine Reihe solcher Pflanzenviren besprochen, die hinsichtlich ihrer Morphologie und ihres chemischen Verhaltens bekannt sind. Es sind aber auch verschiedene andere wichtige Viren in die Betrachtung einbezogen, bei denen die chemische und morphologische Charakterisierung noch offenstehen. Neben der Besprechung der Pflanzenviren im speziellen Teil sind sie auch bei den allgemeinen Grundlagen vielfach als Beispiele für die Vermehrung und Übertragung und auch die Aussichten einer Therapie herangezogen. Das Buch darf deshalb denjenigen Phytopathologen besonders empfohlen werden, die sich über die neben der Symptomatologie gegebenen Methoden zur Charakterisierung von Pflanzenviren und ihre obengenannten Eigenschaften zu unterrichten wünschen.

Pfeil, Hann.-Münden

Trappmann, W. und **Zeumer, H.:** Kleiner Ratgeber über Pflanzenschutzmittel. Arbeiten der deutschen Landwirtschaftsgesellschaft 26. Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft-Verlags-G. m. b. H. Frankfurt/Main 1954. 100 S., Format Din A 5, Preis 2,20 DM.

Verfasser schließen mit dem vorliegenden „Kleinen Ratgeber", der sich an weiteste Kreise der Praxis wendet, eine Lücke, die zweifellos auf diesem Gebiet bestand. Gemäß dem Vorwort ist die 100 Seiten umfassende Broschüre ein „Kommentar" zum „Pflanzenschutzmittelverzeichnis" der Biologischen Bundesanstalt, das als amtliche Liste auf ausführliche Angaben über Art, Wirkung und Anwendung der als brauchbar anerkannten

Pflanzen- und Vorratsschutzmittel verzichten muß. Die allgemeinverständlich gehaltene, in 15 Abschnitte aufgegliederte Schrift enthält eine ausgezeichnete Zusammenstellung und Erläuterung sämtlicher „Fachausdrücke", der wichtigsten Begriffe der Pflanzenschutzmittelchemie und -technik, die einer schnellen Orientierung des Lesers dienend, in gleicher Kürze und Prägnanz an keiner anderen Stelle zu finden sind. Hierauf folgen eine ausführliche Übersicht über die Mittel- und Wirkstoffgruppen, ihre Wirkung und Anwendung, sowie in einem besonderen Abschnitt die wichtigsten Angaben über Stäube-, Spritz-, Sprüh- und Nebelgeräte. Durch Übersichten zur Berechnung und Herstellung von Spritzbrühkonzentrationen, einer Zusammenstellung der zur Bekämpfung der wichtigsten Krankheiten und Schädlinge geeigneten Wirkstoff- und Mittelgruppen u. a. und durch ein alphabetisches Verzeichnis der anerkannten Pflanzen- und Vorratsschutzmittel wird die Brauchbarkeit dieser Broschüre für die Praxis noch weiter erhöht. Die Anschriften der Pflanzenschutzämter und ein Sachregister bilden den Abschluß der kleinen Schrift, die als wertvoller Helfer bei der täglichen Arbeit in der Praxis eines weitgespannten Benutzerkreises sicher sein dürfte.

R. Schneider, Berlin-Dahlem

Stations fédérales d'essais agricoles, Lausanne
Directeur: Dr. R. Gallay

Recherches sur la nutrition, la variation et les propriétés antibiotiques de *Chaetomella horrida* Oud.

par

G. Turian

Avec 5 fig.

Nous avons récemment signalé l'action antagoniste d'une Sphaeropsidale du genre *Chaetomella* vis-à-vis du Champignon du coître de la vigne, *Coniella diplodiella* (Turian, 1954; Turian et Staehelin, 1954).

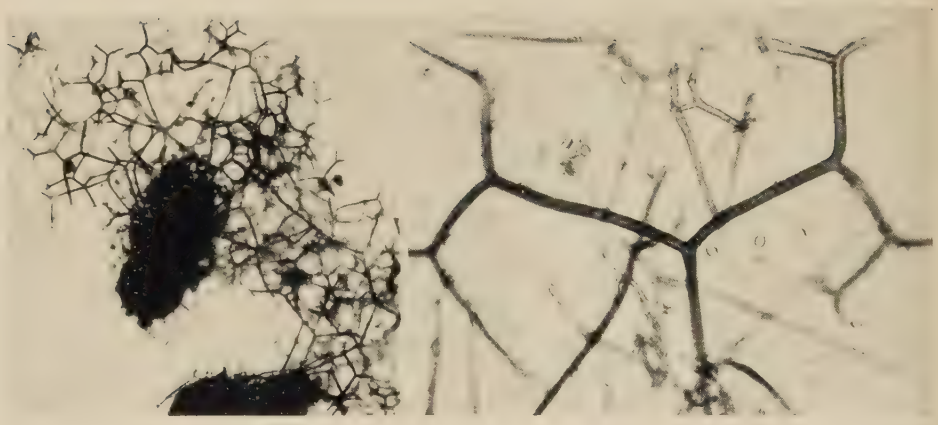
L'intérêt de cette observation nous a paru suffisant pour justifier une étude plus approfondie de la physiologie, de la génétique et des propriétés antibiotiques de cette Moisissure dont les fructifications imparfaites simulent curieusement les périthèces hérissés des *Chaetomium*.

Isolement et identification

Notre souche de *Chaetomella* a été isolée à partir d'un grain de raisin coîtré desséché que nous avions planté sur les bords d'une plaque de moût de raisin gélosé. Après 5 jours de culture, le mycélium de *Coniella*, irradiant d'un autre grain placé sur le côté opposé de la plaque, était stoppé à env. 1 cm du deuxième grain. Ce dernier était donc entouré d'une auréole claire, portion de milieu impropre à la croissance de *Coniella* mais sur laquelle apparurent par contre de nombreuses petites fructifications brunâtres, d'aspect hérissé, que nous avons prélevées aseptiquement et repiquées en tubes sur moût de raisin gélosé.

Cette première série a été ensuite subcultivée sur le milieu de Fries-asparagine-extrait de levure utilisé pour la culture de *Coniella* (Turian, 1954 a) et sur lequel nous avons pu nous assurer de la pureté de notre isolement.

Sur ce milieu, la Moisissure antagoniste développe rapidement de nombreuses fructifications caractéristiques du genre *Chaetomella* Fuckel (fig. 1): pycnides brunes, ovoïdes, sans ostiole, surmontées d'un large faisceau de



1 2

Fig. 1: Pycnides de *Chaetomella horrida* Oud. prélevées sur milieu de FRIES-asparagine-extrait de levure. La pression du couvre-objet a provoqué l'évacuation d'un amas de spores à la base du faisceau de fulcres (80 ×)

Fig. 2. Portion terminale d'un fulcre ornant une pycnide de *Chaetomella horrida* Oud. Remarquer la dichotomie régulière de cet organe et son cloisonnement interne. Observer aussi les spores limoniformes libérées de la pycnide (400 ×). *(Photos: J. Gaillard)*

fulcres ramifiés en forme de bois de cerf, remplies de spores produites sur des sporophores naissant du plancher des pycnides.

De plus, les dimensions des spores limoniformes et gris-brunâtre (4,0 à 5,2 × 5,8—7,2 μ), celles des pycnides (122—160 × 152—184 μ) et la dichotomie régulière des fulcres (fig. 2) correspondent étroitement aux caractères descriptifs de *Chaetomella horrida* Oud. tels qu'ils ont été résumés par GILMAN (1950).

Nutrition

Pour sa croissance mycélienne, *Chaetomella horrida* ne présente pas d'exigences spéciales et se laisse facilement cultiver sur le milieu synthétique simple suivant:

KH_2PO_4	1,0
$MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$ . .	0,5
KNO_3	2,0
Glucose	20,0
H_2O distillée . . ad	1 l

La Moisissure ne tarde pas à couvrir la surface du milieu nitraté d'une croûte brun jaunâtre s'épaississant progressivement (130 mg de poids sec après 20 jours à 24 ° C sur 25 cc de milieu); au niveau de plages plus foncées apparaissent des pycnides peu différenciées, dépourvues de fulcres ramifiés, stériles pour la plupart même en présence d'un supplément d'extrait de levure.

Il s'est révélé que les milieux solides sont plus favorables à la formation normale des pycnides. Cependant, même dans ces conditions, un facteur supplémentaire est nécessaire à la maturation de ces fructifications. Ainsi, sur milieu de FRIES gélosé, sans addition de facteurs de croissance, *Chaetomella* ne forme que lentement des pycnides stériles et à fulcres peu développés. Le même milieu enrichi de 5 γ/litre de biotine n'est guère plus favorable à la sporulation de *Chaetomella*. En revanche, l'addition à ce milieu de 500 γ/l d'aneurine conduit à la production de nombreuses pycnides fertiles, hérissées de longs fulcres ramifiés.

LILLY et BARNETT (1951) ont récemment passé en revue la question du rôle joué par certains facteurs de croissance (aneurine et biotine surtout) dans l'élaboration des structures reproductrices des Champignons. Rappelons aussi que nous avons signalé la nécessité d'un apport suffisant d'aneurine pour la formation des pycnides chez *Coniella diplodiella* (TURIAN et STAEHELIN, 1954).

Du point de vue de la nutrition carbonée de *Chaetomella*, il est intéressant de signaler que cette Moisissure se développe aisément et vigoureusement sur du papier filtre comme unique source de carbone. Pour le démontrer, nous avons introduit un papier filtre Schleicher et Schuell No. 597 stérile dans un erlenmeyer de 150 cc de telle manière qu'en position verticale il s'imprègne par capillarité d'une solution minérale azotée ($MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$ — K_2HPO_4 — NH_4NO_3 — trace extrait de levure). Le mycélium brun jaunâtre de *Chaetomella* n'a pas tardé à envahir le filtre; ce dernier finit par disparaître sous un réseau serré de pycnides hérissées. Le milieu de culture jaunit par suite de la diffusion progressive d'un pigment hydrosoluble. Nous avons trouvé que ce filtrat présente de nettes propriétés antibiotiques et antisporulantes à l'égard de *Coniella diplodiella* (voir p. 118).

Action „mutagène" du nitrite de Na

Malgré les nombreuses subcultures auxquelles ils ont été soumis, nos isolements monosporés de *Chaetomella horrida* n'ont pas présenté de variation apparente et ont constamment maintenu leurs caractères spécifiques. Pour éprouver la stabilité génétique de notre souche, nous avons alors décidé de la cultiver sur le milieu „mutagène" nitrite-mannitol mis au point en 1939 par THOM et STEINBERG pour leurs recherches sur la mutagenèse chimique chez divers *Aspergillus*.

Voici la composition du milieu nitrite-mannitol tel que nous l'avons utilisé:

$MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$ . .	0,5 g
K_2HPO_4	1,0 g
$NaNO_2$	2,0 g
Mannitol	10,0 g
Agar	20,0 g
H_2O distillée . . ad	1 l

Une goutte d'une suspension diluée de spores de *Chaetomella* est déposée à l'aide d'une pipette Pasteur sur la surface du milieu nitrite préalablement coulé et refroidi dans des plaques de Pétri stériles. Les spores sont rapidement dispersées à la surface du milieu à l'aide d'une spatule de verre stérile (méthode dite de plating).

Les plaques sont ensuite soigneusement emballées dans du papier stérile et abandonnées 25 jours à l'étuve à 24 ° C. Passé ce délai, on peut repérer de petites colonies séparées à la surface du milieu; des pycnides caractéristiques, en voie de formation, les rendent facilement reconnaissables et permettent de les distinguer aisément des éventuels contaminants.

Nous avons repiqué un certain nombre de ces colonies sur milieu de FRIES-aneurine et avons eu la surprise de constater que la plupart d'entre elles présentaient sur ce milieu — pourtant très favorable (voir Nutrition) aux cultures témoins — l'aspect de cultures dissociées en une importante plage centrale blanc jaunâtre stérile bordée de zones foncées de réversion au type normal pycnidien.

En prélevant du mycélium au niveau des plages stériles, nous avons pu facilement obtenir une série de cultures mycéliennes pures que nous désignerons par le symbole M, conformément à la nomenclature adoptée par HANSEN (1938) pour les formes non conidiogènes des Fungi imperfecti; la lettre C désignera le type pycnidien normal de *Chaetomella.*

a b c

Fig. 3. De droite à gauche: a) culture du „mutant nitrite" stérile M_5 de *Chaetomella horrida* Oud. sur milieu de FRIES; b) M_7 sur milieu de FRIES + 1 % d'extrait de levure (Difco); c) M_5 sur milieu de FRIES + 1 % d'hydrolysat de caséine. Au bas de (b) et surtout de (c), observer la zone foncée de réversion au type pycnidien normal (réduct. ~ 1/2)

(Photo: J. L. Pfister)

Tout comme le type C normal, les cultures M se sont révélées stables malgré les nombreux repiquages auxquels elles ont été soumises. Ainsi, la souche M_5, repiquée 5 fois de suite, à 10 jours d'intervalle, est restée blanc jaunâtre stérile.

Nous avons parfois observé une faible réversion au type C sur la bordure de cultures „mutantes" âgées. Il n'est pas exclu que des modifications dans la nature du milieu de culture aient pu y contribuer. Nous avons en effet pu observer que l'addition d'hydrolysat de caséine et, dans une moindre mesure, d'extrait de levure, au milieu de FRIES-aneurine tend à favoriser

cette réversion M → C (voir fig. 3). Mais la faible amplitude des réversions occasionnées par les acides aminés ches *Chaetomella horrida* contraste avec la „guérison" partielle, voire totale, signalée par Steinberg et Thom (1940, 1942) chez plusieurs „mutants nitrite" d'*Aspergillus niger* et d'*Aspergillus amstelodami* cultivés en présence de certains acides aminés (lysine et valine en particulier).

Nous pouvons penser que nos différentes souches M sont identiques car en culture mixte (test d'hétérocaryose) les couples M_1—M_5, M_1—M_7, M_5—M_7 sont restés stériles. Il ne semble donc pas que l'un des „mutants" puisse apporter à l'autre le facteur qui lui manque pour redevenir normal et vice versa.

D'autre part, nous avons pu constater que le type M est auxo-autotrophe à l'instar du type normal C. La récolte de M_5 sur le milieu glucose-nitrate atteint même une valeur pondérale double de celle obtenue avec la culture C; cela tient vraisemblablement au fait que, contrairement à ce qui se passe chez C, la croissance mycélienne de M est continue et n'est pas réduite à un moment donné au profit des processus de différenciation sporigènes. A noter, en outre, que la souche M_5 colore le milieu en jaune vif tout comme la souche normale.

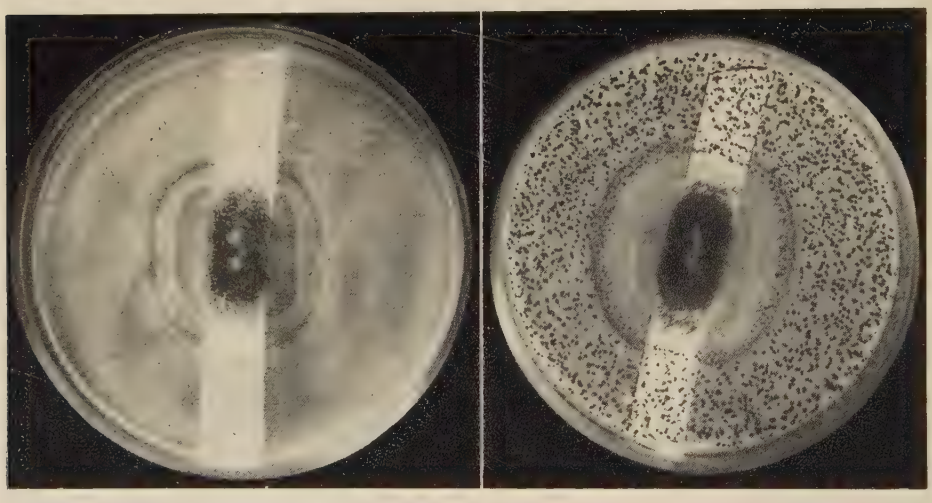
En l'absence de données d'ordre cytologique quant au nombre et à la nature des noyaux (homo ou hétérocaryose) chez *Chaetomella horrida* (les dimensions réduites des spores et le pigment fuligineux qui imprègne leur membrane nous ont empêché jusqu'ici de faire cette détermination), on ne peut que faire des hypothèses concernant le mécanisme de l'action „mutagène" du nitrite chez ce Champignon. En cas d'hétérocaryose sporale, on peut penser que le toxique n'intervient que pour favoriser la ségrégation de noyaux de tendance contraire en état d'équilibre dans la forme normale pycnidienne (d'où la dissociation initiale des premiers repiquages). Par contre, en cas d'homocaryose ou de monocaryose sporale, il est permis alors de penser — en admettant avec Hansen et Snyder (1943) que le passage du type C au type M est le fait d'une vraie mutation — que le nitrite de Na provoque une mutation dirigée C → M chez *Chaetomella horrida.*

Antagonisme *Chaetomella-Coniella*

Chaetomella horrida est inoculé au centre d'une plaque de pétri contenant du moût de raisin dilué (70 ‰) agarisé et additionné de spores de *Coniella. Coniella,* se développant plus rapidement, ne tarde pas à envahir toute la surface agarisée. Cependant, après 5 jours de culture à 24° C, on constate que *Chaetomella* s'est développé aussi, repoussant en le digérant le mycélium de *Coniella,* de telle sorte qu'une zone claire de 4 mm environ sépare les mycélia des deux Moisissures.

La faible vigueur de la croissance de *Chaetomella* nous a incité à chercher à la renforcer en tenant compte des propriétés favorisantes de la cellulose (voir Nutrition).

Nous avons répété l'expérience précédente en inoculant *Chaetomella* sur une bande de papier filtre stérile placée diamétralement à la surface du milieu au moût de raisin gélosé. Dans ces conditions, la croissance de *Chaetomella* est plus vigoureuse et, après 8 jours, cette Moisissure tient en respect la croissance centripète du mycélium de *Coniella*. Il est remarquable de constater que *Chaetomella* fructifie abondamment et exclusivement sur la bandelette de papier (fig. 4) alors que *Coniella* commence à former ses nombreuses pycnides indifféremment à la surface du moût et sur la bandelette.



4 *5*

Fig. 4. Culture mixte, âgée de 8 jours, de *Coniella diplodiella* (Speg.). Pet. et Syd. (ensemencement uniforme) et de *Chaetomella horrida* Oud. (inoculé au centre de la bande de papier filtre) sur plaque de moût de raisin gélosé. Noter l'intense sporulation de *Chaetomella* sur le papier filtre (réduct. $\sim$ 2/3)

Fig. 5. La même culture que sur fig. 4 mais âgée de 25 j. Noter la lyse du mycélium de *Coniella* sur le pourtour de la colonie de *Chaetomella* (réduct. $\sim$ 2/3)

(*Photos: J. Gaillard*)

Après 25 jours, les pycnides de *Coniella* ont laissé échapper leurs spores formant taches noires autour des fructifications. Les propriétés antagonistes de *Chaetomella* se sont accrues et une zone lytique apparaît clairement dans la zone frontière du mycélium de *Coniella* (fig. 5). Il semble donc que l'activation du métabolisme de *Chaetomella* en présence de cellulose, se traduisant par une stimulation considérable de la morphogenèse des pycnides, exalte simultanément les propriétes antibiotiques de cette Moisissure. Nous trouvons là une confirmation de la corrélation étroite existant entre la formation des fructification des Champignons et la libération par ceux-ci de substances toxiques (YARWOOD, 1941).

Essai d'extraction de la substance antibiotique

Nous avons récemment montré que le filtrat, fortement coloré en jaune vif, d'une culture de 35 jours sur milieu nitrate-cellulose, contient un principe inhibiteur à l'égard de *Coniella diplodiella.*

Le filtrat est acidifié avec HCl dilué puis extrait plusieurs fois avec de l'éther éthylique. L'extrait éthéré, contenant une forte proportion de pigment jaune, présente de nettes propriétés inhibitrices de la sporulation et de la croissance de *Coniella.*

Résumé

Une souche de *Chaetomella horrida* Oud. a été isolée d'un grain de raisin coîtré desséché.

Cette Moisissure est auxo-autotrophe pour sa croissance mycélienne. En revanche, la maturation de ses pycnides exige un supplément d'aneurine.

Chaetomella horrida Oud. croît et sporule abondamment sur papier filtre comme unique source de carbone.

Le nitrite de sodium provoque la „mutation" de la forme pycnidienne C de *Chaetomella* en un type mycélien stérile M. La subculture répétée des colonies de type M n'a pas altéré la stabilité de ces „mutants". En revanche, l'addition d'extrait de levure ou, mieux, d'hydrolysat de caséine au milieu de Fries peut favoriser une faible réversion du type M au type C.

Chaetomella horrida Oud. et *Coniella diplodiella* (Speg.) Pet. et Syd. sont antagonistes. Cet antagonisme peut être renforcé par la croissance de *Chaetomella* sur papier filtre.

L'extrait éthéré du milieu de culture de *Chaetomella* présente des propriétés antibiotiques vis-à-vis de *Coniella diplodiella.*

Zusammenfassung

Aus einer von Weißfäule (*Coniella diplodiella* [Speg.] Petr. et Syd.) befallenen, vertrockneten Traubenbeere wurde ein Stamm von *Chaetomella horrida* Oud. isoliert.

Für sein Myzelwachstum ist dieser Schimmelpilz auxo-autotroph; zur Reifung der Pyknidien benötigt er dagegen Aneurin.

Auf Filterpapier als einziger C-Quelle wächst und sporuliert *Chaetomella horrida* reichlich.

Natriumnitrit löst eine „Mutation" der Pyknidienform C von *Chaetomella* in einen sterilen Myzeltyp M aus. Auch nach wiederholter Abimpfung blieben diese M-„Mutanten" stabil. Ein Zusatz von Hefenextrakt oder (besser) Kaseinhydrolysat zur Fries-Nährlösung kann eine schwache Rückbildung des Typs M in den Typ C begünstigen.

Chaetomella horrida und *Coniella diplodiella* sind Antagonisten. Die antagonistische Wirkung der *Chaetomella* kann durch Kultur des Pilzes auf Filterpapier gesteigert werden. Ätherextrakte von *Chaetomella*-Kulturfiltraten weisen antibiotische Eigenschaften gegen *Coniella diplodiella* auf.

Summary

A strain of *Chaetomella horrida* Oud. has been isolated from a withered, white-rotted grape.

This mold is auxo-autotroph for its mycelial growth. However, it requires a supplement of thiamin for the maturation of its pycnidia.

Chaetomella horrida Oud. grows and sporulates heavily on filter paper as a unique source of carbon.

Sodium nitrite induces „mutation" of the pycnidial type C of *Chaetomella* into a sterile mycelial type M. Stability of the M „mutants" has not been impaired by a number of subcultures. FRIES medium enriched with yeast extract or better with casein hydrolysate may favour a weak reversion of the M to the C type.

Chaetomella horrida Oud. and *Coniella diplodiella* (Speg.) Pet. et Syd. are antagonists. Such an antagonism is enhanced by growing *Chaetomella* on filter paper.

The ether extract of the culture medium of *Chaetomella* has shown antibiotic properties against *Coniella diplodiella.*

Bibliographie

GILMAN, J. C., 1950: A Manual of Soil Fungi. The Iowa State Coll. Press, Ames (USA).

HANSEN, H. N., 1938: The dual phenomenon in imperfect fungi. Mycologia **30**, 442—455.

— — et SNYDER, W. C., 1943: The dual phenomenon and sex in *Hypomyces solani* f. *curcurbitae*. Amer. J. Bot. **30**, 419—422.

LILLY, V. G., et BARNETT, H. L., 1951: Physiology of the Fungi. McGraw-Hill Co., New York.

STEINBERG, R. A., et THOM, C., 1940: Mutations and reversions in reproductivity of *Aspergilli* with nitrite, colchicine and d-lysine. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **26**, 363—366.

— —, — —, 1942: Reversions in morphology of nitrite-induced „Mutants" of *Aspergilli* grown upon amino acids. J. Agr. Research **64**, 645—652.

THOM, C., et STEINBERG, R. A., 1939: The chemical induction of genetic changes in fungi. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **25**, 329—335.

TURIAN, G., 1954: Récents progrès de la lutte contre le coître de la vigne. Rev. rom. Agric. Vitic. Arboric. **10**, 12—14.

— —, 1954 a: „Effet d'épargne" de l'asparagine vis-à-vis de la biotine chez *Coniella diplodiella*. Phytopath. Z. **19**, 211—214.

— —, et STAEHELIN, M., 1954: Nouvelles recherches sur le champignon du coître de la vigne, *Coniella diplodiella* (Speg.) Pet. et Syd. Ann. Agric. Suisse, Nouv. Sér., Vol. 2.

YARWOOD, C. E., 1942: Sporulation injury associated with downy mildew infections. Phytopathology, *31*, 741—748.

Aus dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule Braunschweig

Über die Beeinflussung der Sporenkeimung des Zwergsteinbrandes und Roggensteinbrandes durch verschiedene Chemikalien

Von

G. Gassner † und E. Niemann

Mit 2 Abbildungen

I. Einleitung

Nach den letztjährigen Untersuchungen von Lowther (10), Gassner (7), Böning, Wagner und v. Minckwitz (1), Pichler (12) und Gassner und Niemann (5) darf die Keimungsphysiologie der Sporen des Zwergsteinbrandes (*Tilletia brevifaciens* Fischer) und des Roggensteinbrandes (*Tilletia secalis* Kcke.) in ihren Grundzügen als geklärt betrachtet werden, nachdem gezeigt werden konnte, daß zur Auslösung der Sporenkeimung beider Formen die gleichzeitige Einwirkung von tiefer Temperatur und Belichtung erforderlich ist.

Neben den Untersuchungen über die Wirkung von Temperatur und Licht (5) wurden von uns nun auch Versuche durchgeführt, bei diesen Formen durch Anwendung verschiedener Chemikalien eine Sporenkeimung auszulösen, da es bereits Hahne (8) und Rabien (13) gelungen war, durch Zusatz solcher stimulierend wirkender Stoffe die Sporenkeimung des gewöhnlichen Steinbrandes weitgehend zu beeinflussen. Aus theoretischen und praktischen Gründen erschien uns der Versuch, auf diese Art beim Zwerg- und Roggensteinbrand auch ohne Einwirkung einer Belichtung ausreichende Sporenkeimung zu erzielen, nicht ohne Bedeutung. Über das Ergebnis der Untersuchungen wird im folgenden berichtet.

II. Material und Methodik

Angaben über die Herkunft des für die Untersuchungen verwendeten Zwerg- und Roggensteinbrandmaterials wie auch über Einzelheiten der Versuchsmethodik wurden in einer früheren Mitteilung (5) gemacht und können dort entnommen werden.

Für die Keimversuche wurden die Steinbrandsporen zumeist mit Wasser angerührt und in Petrischalen (9 cm ⌀) auf einem Schlämmboden aus lehmiger Ackererde ausgestrichen. Die Aufstellung der Schalen erfolgte in Kühlräumen bei Temperaturen von + 3° oder + 5° C in absoluter Dunkelheit (jede Ablesung bedeutet zugleich das Versuchsende), relativer Dunkelheit (jeweils bei den Ablesungen kurzfristiger Lichtzutritt) oder bei künstlicher Belichtung. Zur Ablesung, die in etwa wöchentlichen Abständen erfolgte, wurde ein Binokular mit 32facher Vergrößerung benutzt. Bei dieser Art der Ablesung war es nicht möglich, den Prozentsatz der gekeimten Sporen (also die Promycelbildung) zu erfassen, wie es bei Sporenkeimversuchen in flüssigem Substrat üblich ist, sondern es ließ sich nur die Stärke der Sporidienbildung (ein sekundärer, der Keimung folgender Vorgang) bewerten. Die hierfür festgelegten Werte werden der Kürze halber im folgenden als Keimzahl bezeichnet:

0 = keine Keimung,
0,1 = weniger als 10 Sporen je Petrischale (9 cm ⌀) gekeimt,
0,3 = etwa 5 Sporen im Gesichtsfeld (21 qmm) gekeimt,
0,5 = etwa 20 Sporen im Gesichtsfeld (21 qmm) gekeimt,
0,7 = etwa 50 Sporen im Gesichtsfeld (21 qmm) gekeimt,
1,0 = Keimung makroskopisch eben als schwachgrauer Schimmer zu erkennen, etwa 200 Sporen im Gesichtsfeld gekeimt,
2,0 = makroskopisches Aussehen der Ausstriche deutlich grau,
3,0 = makroskopisches Aussehen der Ausstriche weißgrau,
4,0 = makroskopisches Aussehen der Ausstriche rein weiß, dicht filzig. Zwischen den Sporidien keine Sporen mehr zu erkennen.

Zwischenstufen wurden mit 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 0,9 bzw. 1,5; 2,5; 3,5 bonitiert.

Die Stärke der Sporidienbildung erreicht im Verlauf der Versuche zumeist einen Höchstwert, um dann langsam wieder zurückzugehen. Dies ist dadurch bedingt, daß die gebildeten Sporidien nach einiger Zeit wieder zusammenfallen oder aufgelöst werden. Maßgebend für die Bewertung der Ergebnisse war daher zumeist die höchste während der Versuchsdauer erreichte Keimzahl.

Die im Jahre 1952/53 durchgeführten Untersuchungen wurden aus Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft finanziert, der wir hierfür unseren Dank sagen.

III. Vorversuche

Von RABIEN (13, Tabelle 10) wurde eine größere Zahl verschiedenartiger chemischer Verbindungen daraufhin geprüft, wieweit sie die Keimung des gewöhnlichen Steinbrandes stimulierend zu beeinflussen vermögen. Von den von ihm als wirksam befundenen Substanzen wurden von uns 26 ausgewählt und in einem Vorversuch darauf untersucht, ob sie eine gleiche fördernde Wirkung auch auf die Sporenkeimung des Zwergsteinbrandes ausüben können.

Es wurde hierzu die von GASSNER (3) angegebene Versuchsmethodik verwendet, wobei die zu prüfende Substanz, mit der zehnfachen Wassermenge und etwas Boluspulver angerührt, als etwa 5 mm breiter Pinselstrich quer über die in Petrischalen auf Schlämmboden ausgestrichenen Sporen auf-

getragen wird. Durch Zusatz des indifferenten Boluspulvers wird erreicht, daß sich der Chemikalienstrich für die Ablesungen deutlicher vom Keimsubstrat abhebt. Zu beiden Seiten der so aufgetragenen Substanz bildet sich infolge ihrer Diffusion im Schlämmboden ein Konzentrationsgefälle aus, so daß auf einfache Weise die Wirkung eines großen Konzentrationsbereiches auf die Sporenkeimung erfaßt werden kann. Im typischen Fall ist bei den Steinbrandsporen unmittelbar neben dem Chemikalienstrich eine Zone gehemmter Keimung, anschließend eine Förderungszone und endlich ein Bereich unbeeinflußter Keimung zu erkennen. Als Beispiel hierfür wird in Abb. 1 die Beeinflussung der Sporenkeimung des Zwergsteinbrandes durch Pyrogallol gezeigt.

Alle Versuchsschalen wurden in relativer Dunkelheit bei + 5° C aufgestellt und einmal wöchentlich abgelesen. Unter diesen Bedingungen waren während der Versuchsdauer von 87 Tagen im Bereich unbeeinflußter Keimung infolge der geringen, jeweils während der Ablesung einwirkenden Belichtung allgemein Keimzahlen von 0,7 bis 1 zu verzeichnen, d. h. es waren bei 32facher Vergrößerung etwa 50 bis 200 gekeimte Sporen im Gesichtsfeld zu erkennen. Die stärkste Keimung wurde zumeist zwischen dem 50. und 65. Tage beobachtet; gegen Ende des Versuches gingen die Keimzahlen dann wieder zurück.

Je nachdem, ob die Hemmungs- bzw. Förderungszone ausgebildet war oder fehlte, ließen sich die einzelnen Verbindungen in verschiedene Gruppen zusammenfassen:

1. Keine Wirkung (weder Hemmungs- noch Förderungszone) neben dem Chemikalienstrich zu erkennen. Hierzu gehörten: Ammoniumchlorid, Ammoniumnitrat, Natriumsulfit, Calciumnitrat, Calciumfluorid, Mangandioxyd, Bleiarsenat und Kupfersulfid.

2. Mehr oder weniger ausgeprägte Förderungszone neben dem Chemikalienstrich, jedoch keine Hemmung. Die Förderung war dabei — bei den einzelnen Chemikalien unterschiedlich — etwa ab 40. bis 50. Tag zu erkennen und ging gegen Ende des Versuches zumeist wieder zurück. In diese Gruppe gehörten: Natriumphosphat (tertiär), Kaliumpermanganat, Chlorkalk, Eisensulfat, Eisenammonsulfat, Mangansulfat, Oxalsäure. Von diesen Verbindungen wurde das Kaliumpermanganat auch bereits von Gassner (7) geprüft, der gleichfalls eine starke keimungsfördernde Wirkung feststellen konnte.

3. Neben dem Chemikalienstrich eine Hemmungszone, daran anschließend eine Förderungszone unterschiedlicher Ausbildung. Die Förderungszone trat meistens erst etwas später auf als die Hemmungszone. In diese Gruppe waren Pyrogallol, Silbernitrat, Ceresan[1]) und Bleinitrat einzuordnen.

[1]) Es handelt sich um ein Präparat unbekannten Alters ohne HCB-Zusatz.

4. Nur eine Hemmungszone neben dem Chemikalienstrich erkennbar, jedoch kein Förderungsbereich: Calciumborat, Kupferacetat, Bleiacetat, Nickelsulfat, Kobaltnitrat, Germisan.

5. Verzögerte Keimung der Steinbrandsporen erfolgte in einer Schale mit Kaliumjodidausstrich. Hier begann die Sporenkeimung in der ganzen Schale erst nach 79 Tagen (auch dann nur schwach), während in allen übrigen Versuchen die ersten gekeimten Sporen schon 22 bis 37 Tage nach Versuchsbeginn beobachtet wurden.

Diese auffällige Keimungsverzögerung durch Kaliumjodid wurde auch in zwei weiteren Wiederholungsversuchen mit dieser Substanz erhalten und trat ebenfalls auf, wenn das Kaliumjodid in gleicher Weise über Sporen des Roggensteinbrandes oder des gewöhnlichen Steinbrandes ausgestrichen wurde. Bei letzterer Sporenart war allerdings die Keimung nicht in der ganzen Petrischale gleichmäßig gehemmt, sondern es trat nur eine begrenzte Hemmungszone auf, deren Breite von der Temperatur abhing, bei der die Keimschalen aufgestellt wurden (bei 5° C etwa 20 mm, bei 15° C etwa 10 mm breite Hemmungszone). Bei 5° C (nicht aber bei 15° C) konnte für diese Substanz mit der Methode von GASSNER (4) bei gewöhnlichem Steinbrand außerdem eine gasförmige Hemmung von etwa 5 mm Breite nachgewiesen werden. so daß angenommen werden darf, daß auch die Keimungsverzögerung bei Zwerg- und Roggensteinbrand vorwiegend auf diese gasförmige Wirkung zurückzuführen ist. Auffällig war an den verwendeten Kaliumjodidpräparaten (purissimum, DAB 6) der durchdringend starke Geruch, welcher wahrscheinlich von organischen Jodverbindungen hervorgerufen wurde, die stets in Spuren im Kaliumjodid vorhanden sind. Es ist zu vermuten, daß nicht das Kaliumjodid selbst, für das von RABIEN (13) eine fördernde Wirkung auf die Keimung des gewöhnlichen Steinbrandes angegeben wurde, sondern die darin enthaltenen Verunreinigungen für die Hemmungswirkung verantwortlich zu machen sind.

Die Sporen des Zwergsteinbrandes besitzen, wie FISCHER (2) hervorhebt, eine Schleimhülle, welche den Sporen des gewöhnlichen Steinbrandes (*Tilletia tritici* [Bjerk.] Winter) fehlt. Bei mikroskopischer Untersuchung von Steinbrandsporen wurde von uns außerdem beobachtet, daß die Zwergsteinbrandsporen bei Zusatz von Chloralhydrat im Gegensatz zu den Sporen des gewöhnlichen Steinbrandes nur wenig aufgehellt wurden. Es konnte weiterhin festgestellt werden, daß aus Sporen des gewöhnlichen Steinbrandes, die einen Tag in Wasser bei Zimmertemperatur eingeweicht wurden, größere Mengen an Trockensubstanz in das Wasser ausgeschieden wurden (0,23 g aus 5 g Sporen = 4,5 %) als aus Sporen des Zwergsteinbrandes (0,15 g aus 5 g Sporen = 3 %). Bei diesen Ausscheidungen handelte es sich um braungefärbte, nicht näher untersuchte Stoffe. Alle diese Punkte sprechen dafür, daß die Sporenwand beider Arten sich in Bau und Permeabilität unterscheidet. Eventuell liegt hierin die Ursache für das unterschiedliche Keimverhalten von Zwergsteinbrand und gewöhnlichem Steinbrand begründet. Es war daher zu prüfen, ob durch Auflockerung der Sporenmembran unter Anwendung stark wirkender Chemikalien eine Keimungsförderung der Zwergsteinbrandsporen zu erreichen war.

Bei hartschaligen Leguminosensamen läßt sich unter anderem durch eine Säurebehandlung die Hartschaligkeit der Testa beseitigen und die Keimung beschleunigen (HILTNER und KINZEL, 9). Die gleiche Methode wurde von uns auch bei Zwergsteinbrand versucht, indem

die Sporen für fünf Minuten mit Salpetersäure verschiedener Konzentration (0,06 bis 16 %) behandelt, mit Wasser nachgewaschen und dann auf Schlämmboden zur Keimung ausgestrichen wurden. Eine Förderung der Keimung gegenüber unbehandelten Kontrollen war auf diese Art jedoch nicht zu erzielen. Auch einstündige Vorbehandlung der Sporen mit Natronlauge (0,25 bis 16 %) übte keine fördernde Wirkung auf die Keimung aus.

Als weiteres Mittel wurde noch Wasserstoffsuperoxyd in Konzentrationen von 3 % und 10 % untersucht. Die Zwergsteinbrandsporen wurden damit angerührt und (ohne vorheriges Nachspülen mit Wasser) in Petrischalen auf einer Hälfte des in der Mitte geteilten Schlämmbodens ausgestrichen. Die Unterteilung des Schlämmbodens erfolgte hierbei durch tiefes Eindrücken mit der Kante eines Objektträgers, so daß eine Diffusion des Peroxyds im Schlämmboden vom behandelten zum unbehandelten Feld ausgeschlossen war. Beim Ausstreichen dieser Sporenanrührungen auf den Schlämmboden trat starkes Aufschäumen mit Gasentwicklung ein; die Sporenfarbe wurde stark aufgehellt[1]). Die unbehandelten, mit Wasser angerührten Kontrollen wurden in den gleichen Schalen wie die mit Peroxyd angerührten Sporen auf die andere Hälfte des Schlämmbodens ausgestrichen und standen damit unter vollkommen gleichen Temperatur-, Substrat- und Sauerstoffbedingungen. In diesen Versuchen war bei Anrühren mit 10%igem Wasserstoffsuperoxyd nach 71 Tagen (bei 5° C in relativer Dunkelheit) eine Sporenkeimung der Keimzahl 1,5 erfolgt, in der Kontrolle dagegen nur 0,8. Behandlung mit 3%iger Wasserstoffperoxydlösung hatte keine eindeutig fördernde Wirkung. In einem ergänzenden Versuch unter gleichen Bedingungen konnte auch die Roggensteinbrandkeimung durch Wasserstoffperoxydzusatz deutlich gefördert werden.

Bei dieser Förderung durch 10%iges Wasserstoffperoxyd kann es sich nicht um die alleinige Wirkung des freiwerdenden Sauerstoffs handeln, da in diesem Fall auch der in derselben Schale befindliche Kontrollausstrich, der ja unter gleichen Sauerstoffverhältnissen stand, in gleicher Weise beeinflußt werden müßte. Die starke Farbaufhellung der Sporen nach Wasserstoffperoxydzugabe deutet vielmehr darauf hin, daß eine direkte oxydierende Einwirkung auf die Sporenmembran vorlag.

Als Ergebnis dieser Vorversuche ist festzustellen, daß es bei relativer Dunkelheit durchaus möglich ist, die Keimung der Zwergsteinbrandsporen durch Zusatz verschiedenartiger Chemikalien auszulösen bzw. zu fördern. Von besonderem Interesse ist dabei, daß auch ausgesprochene „Desinfektionsmittel" wie Kaliumpermanganat, Silbernitrat, Wasserstoffperoxyd und Chlorkalk oder ein quecksilberhaltiges Beizmittel (Ceresan) unter gewissen Bedingungen eine derartige Wirkung auszuüben vermögen. Ziel der weiteren Untersuchungen war es, Einblick in die Bedingungen zu gewinnen, unter denen die Chemikalien ihre volle fördernde Wirkung entfalten.

[1]) Gassner (7) gibt an, daß auch am Licht zur Keimung aufgestellte Zwergsteinbrandsporen nach 14 Tagen ihren tiefdunklen Farbton in ein blasses, bräunliches Gelb wechseln.

Tabelle 1

Chemikalienwirkung auf die Sporenkeimung des Zwergsteinbrandes (Herkunft 1952)

Schale	Chemikalienanrührung	Konzentration %	Keimzahl nach Tagen				
			49	56	67	76	83
1	unbehandelt	—	0,6	0,7	0,4	—	—
	Kaliumpermanganat	10	**2**	**2**	**2**	—	—
		3	**1,5**	**1,5**	**1,5**	—	—
		1	0,8	0,9	**1**	—	—
		0,3	0,5	0,7	0,4	—	—
		0,1	0,5	0,6	0,2	—	—
2	unbehandelt	—	0,4	0,7	0,4	0,3	0
	Eisensulfat	10	0,4	1	**1,5**	**1,5**	**1,5**
		3	0,4	1	**1,5**	**1,5**	**1,5**
		1	0,6	1	**1,5**	**1,5**	**1,5**
		0,3	0,6	0,8	0,8	0,7	**0,8**
		0,1	0,4	0,6	0,6	0,7	0
3	unbehandelt	—	0,4	0,8	0,4	0	—
	Oxalsäure	10	0,8	**2**	**1,5**	**1,5**	—
		3	0,6	**1,5**	**1,5**	**1**	—
		1	0,6	1	**1**	**1**	—
		0,3	0,5	0,8	0,8	0,5	—
		0,1	0,4	0,6	0,5	0,1	—
4	unbehandelt	—	0,7	0,8	0,8	0,7	—
	Wasserstoff-peroxyd	30	0	0	0,5–**1,5**	0–**2**	—
		10	0–0,5	0–1	1	1	—
		3	0,6	1	1	1	—
		1	0,8	1	0,9	0,8	—
		0,3	0,7	0,8	0,8	0	—
5	unbehandelt	—	0,6	0,6	0,7	0,4	0
	Natriumphosphat (tertiär)	10	0,1	0,5	1	**1**	**1**
		3	0,4	0,7	0,8	0,3	0
		1	0,4	0,6	0,7	0,3	0
		0,3	0,4	0,5	0,8	0,1	0
		0,1	0,2	0,5	0,7	0,7	0
6	unbehandelt	—	0,4	0,6	0,4	0,3	0,3
	Silbernitrat	10	0	0	0	0	0
		1	0	0	0	0	0
		0,1	0	0	0	0	0
		0,01	0	0	0,5	**1**	**1**
		0,001	0,5	0,6	0,5	0,6	0,6
7	unbehandelt	—	0,5	0,8	0,8	0,7	0
	Pyrogallol	10	0	0	0	0,2	0
		3	0,4	0,6	1	1	**1**
		1	0,5	0,7	1	1	**1**
		0,3	0,6	0,8	0,8	0,8	0,5
		0,1	0,5	0,6	0,8	0,4	0,3

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Schale	Chemikalienanrührung	Konzentration	Keimzahl nach Tagen				
			49	56	67	76	83
8	unbehandelt	—	0,3	0,4	0,4	0,4	0
	Ceresan	gesättigt	0	0	0	0	0
		1/3 „	0	0	0	0	0,1
		1/10 „	0	0	0	0,3	**0,7**
		1/30 „	0,4	0,4	0,6	**0,9**	**0,8**
		1/100 „	0,4	0,7	0,6	0,7	**0,8**
9	unbehandelt	—	0,4	0,7	0,5	—	—
	Chlorkalk	gesättigt	0,6	0,8	0,3	—	—
		1/3 „	0,5	0,7	0,4	—	—
		1/10 „	0,5	0,6	0,3	—	—
		1/30 „	0,4	0,6	0,3	—	—
		1/100 „	0,4	0,5	0,5	—	—

Ausstrich auf Schlämmboden. Überstreichen mit Chemikalienanrührungen vier Wochen nach dem Ausstreichen der Sporen. Aufstellung der Versuchsschalen in relativer Dunkelheit bei + 5 ° C. (Die stärkeren Förderungen sind durch Fettdruck hervorgehoben.)

IV. Wirksame Konzentration der Chemikalien

1. Chemikalienwirkung auf Schlämmboden

Die in den Vorversuchen benutzte Methode, bei der die auf Schlämmboden aufgetragenen Steinbrandsporen mit einem Strich der 10%igen Chemikalienanrührung übergestrichen wurden, konnte wohl einen Überblick geben, ob überhaupt eine fördernde Wirkung der betreffenden Verbindung vorhanden war. Zur Anzucht größerer Mengen vorgekeimter Sporidien, wie es zur Durchführung künstlicher Infektionen (6) nötig ist, war sie jedoch ungeeignet, da die Zone geförderter Keimung immer nur schmal war. Es mußte daher nach anderen Methoden gesucht werden. Voraussetzung hierfür war eine genauere Kenntnis der wirksamen Chemikalienkonzentrationen. Bei den in Gruppe 3 des Vorversuches zusammengefaßten fördernden Verbindungen hatte sich ja gezeigt, daß eine 10%ige Chemikalienanrührung offensichtlich zu hoch war und noch hemmend wirkte; erst in einiger Entfernung vom Chemikalienstrich stellte sich hier ein Konzentrationsbereich ein, der die Sporenkeimung fördernd beeinflußt (vgl. Abb. 1).

Neun Verbindungen, die in dem Vorversuch mehr oder weniger fördernd gewirkt hatten, wurden in einem weiteren Versuch in verschiedener Konzentration gegen Zwergsteinbrandsporen geprüft (Tabelle 1). Um jeweils fünf verschiedene Konzentrationen jeder Verbindung und eine Kontrolle unter möglichst gleichartigen Bedingungen (z. B. Feuchtigkeitsgrad des Schlämmbodens, Verschluß der Petrischalen) erfassen zu können, wurde der

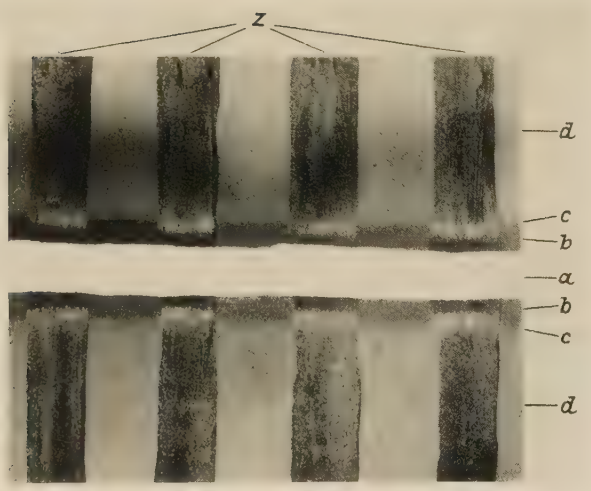


Abb. 1. Keimungsbeeinflussung des Zwergsteinbrandes durch Pyrogallol. Sporenausstriche (Z) auf Schlämmboden. Aufstellung bei 5° C in *relativer Dunkelheit*. 4 Wochen nach Versuchsbeginn wurde eine 10%ige Pyrogallollösung (zur Kenntlichmachung mit Boluspulver angedickt) quer über die Sporen ausgestrichen (a). — Aufnahme 65 Tage nach Versuchsbeginn. Vergr. 1 : 1,2; b = etwa 1—2 mm breite Hemmungszone (Keimzahl 0); c etwa 2 mm breite Förderungszone (Keimzahl 1,5); d = Bereich unbeeinflußter Keimung (Keimzahl 0,7). Der Diffusionsbereich des Pyrogallos im Schlämmboden ist an der dunkelverfärbten Zone zu beiden Seiten des Striches a zu erkennen

Schlämmboden in jeder Petrischale nach dem Ausstreichen der Sporen durch Eindrücken mit der Kante eines Objektträgers in sechs gleiche Sektoren geteilt, die dann vier Wochen danach mit den verschiedenen Konzentrationen der einzelnen Verbindungen behandelt wurden. Die Sporen wurden hierbei auf der ganzen Fläche des Sektors gleichmäßig mit der betreffenden Chemikalienkonzentration übergepinselt. Ein Sektor in jeder Schale blieb jeweils als Kontrolle unbehandelt.

Stärkere Förderung war bei der Verwendung von Eisensulfat, Kaliumpermanganat, Oxalsäure und Wasserstoffperoxyd zu erreichen. Das Eisensulfat wirkte dabei in Konzentrationen von 10 %, 3 % und 1 % gleich stark, während bei Kaliumpermanganat und Oxalsäure durch 10%ige Lösungen eine etwas stärkere Förderung als durch die 3%igen und 1%igen Lösungen zu erreichen war. Das Wasserstoffperoxyd entfaltete stärkste Wirksamkeit in 30%iger Anwendung. Die unterschiedliche Keimung bei dieser Konzentration — bei Ablesung am 76. Tage schwankte die Keimzahl auf diesem Ausstrich zwischen 0 und 2 — war durch das starke Aufschäumen beim Überstreichen mit der Wasserstoffperoxydlösung bedingt, wodurch der ganze Sporenausstrich blasenförmig aufgetrieben wurde.

Bei Natriumphosphat (10 %), Silbernitrat (0,01 %), Pyrogallol (3 % und 1 %) und Ceresan (1/10 bis 1/100 gesättigt) trat erst verhältnismäßig spät nach 76 bis 83 Tagen eine schwache Förderung auf, während diese Konzentrationen in den ersten Wochen des Versuches zumeist hemmend wirkten. Zur Zeit, wo hier die Förderung in Erscheinung trat, war die Keimung in den unbehandelten Kontrollen, die maximal 0,4 bis 0,8 betrug, bereits wieder zurückgegangen. Vergleicht man daher die bei Behandlung mit diesen letzten Substanzen nach 83 Tagen erreichten Keimzahlen mit den Keimzahlen der zugehörigen Kontrollen nach 56 oder 67 Tagen, so zeigt sich, daß der echte Förderungseffekt nur gering war.

Für den Chlorkalk konnte in den verwendeten Konzentrationen keine Beeinflussung der Sporenkeimung beobachtet werden.

Als Ergebnis dieses Versuches ist festzustellen, daß Kaliumpermanganat, Eisensulfat und Oxalsäure besonders geeignet sind, Sporenkeimung beim Zwergsteinbrand auszulösen. Diese Substanzen erwiesen sich auch bei Prüfungen mit Roggensteinbrand in gleicher Weise als wirksam. Das Wasserstoffperoxyd ist für Keimversuche mit Steinbrandsporen wenig geeignet, da sich hier das starke Aufschäumen störend bemerkbar macht. Auch die übrigen angeführten Verbindungen sind ungünstig, da die Förderung nur schwach und außerdem auf einen enger begrenzten Konzentrationsbereich beschränkt war. Es muß dabei allerdings offenbleiben, wieweit überhaupt durch die verwendeten Chemikalienkonzentrationen der wirksamste Bereich bereits erfaßt wurde.

Beim Kaliumpermanganat, einer Sauerstoff abspaltenden Verbindung, und Pyrogallol, einer Sauerstoff bindenden Substanz, handelt es sich um zwei Stoffe gerade entgegengesetzter Wirkungsart. Trotzdem wirkten beide fördernd auf die Sporenkeimung. Es war daher von Interesse, noch eine dem Pyrogallol verwandte Verbindung, das Tannin, zu prüfen. Sowohl bei Zwergsteinbrand wie bei Roggensteinbrand erwies sich diese Substanz bei 10%iger Anwendung (Überstreichen der Sporen auf ganzer Fläche) als keimungsfördernd. Nach 59 Tagen wurde in einem Versuch mit Tanninbehandlung von Zwergsteinbrandsporen in relativer Dunkelheit eine Keimung von 1 erzielt, gegenüber 0,3 in der unbehandelten Kontrolle; bei Roggensteinbrandsporen war nach 34 Tagen eine Förderung von 1,5 gegenüber 0,8 in der Kontrolle zu erreichen.

Außer dem oben bereits erwähnten Eisensulfat wurden ergänzend noch zwei weitere Eisenverbindungen, Eisenammonsulfat und Eisenchlorid, untersucht. Beide, besonders aber das Eisenammonsulfat, erwiesen sich gleichfalls bei 4%iger Anwendung (Überstreichen der Sporen auf ganzer Fläche) als geeignet, beim Zwerg- und Roggensteinbrand eine Sporenkeimung auszulösen.

Es blieb noch die Frage zu untersuchen, ob eventuell durch Kombination zweier Substanzen die keimungsfördernde Wirkung verstärkt werden kann. Hierzu wurden die auf Schlämmboden ausgestrichenen Zwerg- bzw. Roggensteinbrandsporen unmittelbar nacheinander mit zwei verschiedenen Chemikalien übergestrichen. Zur Anwendung kamen die Kombinationen Kaliumpermanganat (10%) / Oxalsäure (10%); Kaliumpermanganat (10%) / Eisenammonsulfat (4%); Eisenammonsulfat (4%) / Oxalsäure (10%). Gegenüber der bereits von den Einzelkomponenten bewirkten Keimungsförderung war keine bzw. nur geringe weitere Förderung nach Behandlung mit diesen Chemikaliengemischen zu erreichen, so daß auf eine Wiedergabe dieser Versuche verzichtet werden kann.

2. Chemikalienwirkung in flüssigem Keimmedium

Bei keimungsphysiologischen Untersuchungen bedeutet das Ausstreichen der Sporen auf Schlämmboden — obwohl diese Methode den natür-

lichen Verhältnissen am nächsten kommt — in manchen Fällen einen Nachteil, da durch den Schlämmboden mit seiner stark wechselnden Zusammensetzung ein weiterer unbekannter Faktor in den Versuch hineingebracht wird. So hatte sich z. B. bei einigen Vorversuchen gezeigt, daß bei der Behandlung von Sporen des gewöhnlichen Steinbrandes mit Oxalsäurelösung nur auf einem bestimmten Schlämmboden eine Keimungsförderung zu erreichen war, während auf einem Schlämmboden anderer Herkunft die Oxalsäure sofort nach dem Aufbringen unter Gasbildung zersetzt wurde und die Förderung ausblieb. Die unterschiedliche Wirksamkeit der Oxalsäure in beiden Versuchen mußte daher auf die verschiedene Zusammensetzung der verwendeten Schlämmböden zurückgeführt werden. Um derartige Wechselwirkungen zwischen dem Schlämmboden und der zu untersuchenden Substanz möglichst auszuschalten, wurde im folgenden versucht, die Sporen direkt in den Chemikalienlösungen anzukeimen.

Einen Überblick über die hierbei zu wählenden Konzentrationen der Chemikalien gab ein Vorversuch mit Sporen des gewöhnlichen Steinbrandes. Nach Aufstellung in relativer Dunkelheit bei 12 bis 15° C erwiesen sich Calciumnitratlösungen in Konzentrationen von 1 % bis 0,001 %, Kaliumpermanganat, Wasserstoffperoxyd und Natriumphosphat in 0,01%iger Lösung und Silbernitrat in 0,0001%iger Anwendung als mehr oder weniger keimungsfördernd.

Ein Auszug aus einer weiterhin mit Roggensteinbrandsporen durchgeführten Versuchsreihe ist in Tabelle 2 zusammengestellt. Sie zeigt den Prozentsatz der in den Lösungen gekeimten Sporen in der von RABIEN (13, S. 300) angegebenen Bonitierung bei Ablesung am 43. Tage[1]) nach Versuchsbeginn. In der Wasserkontrolle konnte zu dieser Zeit nur eine Keimung von I bzw. II (etwa 1 % bzw. 5 %) festgestellt werden, ein Prozentsatz, der sich auch bis zum Abbruch des Versuches am 51. Tage nur unwesentlich änderte. Eine beträchtliche Förderung der Sporenkeimung ließ sich in Kaliumpermanganatlösung (0,01 % und 0,001 %), Calciumnitrat (1 % bis 0,01 %), Silbernitrat (0,0001 %) und Eisenammonsulfat (0,001 %) erreichen, während Oxalsäure, Wasserstoffperoxyd, Pyrogallol und Natriumphosphat nur unsichere bzw. keine Wirkung zeigten. Besonders hervorzuheben ist der starke Förderungseffekt des Calciumnitrats, da diese Substanz auf Schlämmboden ohne Wirkung war. In allen Fällen konnte an den gekeimten Sporen die Bildung von Sporidien festgestellt werden, die sich in Form, Größe und Anlage der Fusionen nicht von denen des gewöhnlichen Steinbrandes unterschieden.

In die Tabelle 2 wurde noch eine unter gleichen Bedingungen durchgeführte Versuchsreihe mit Zwergsteinbrandsporen aufgenommen. Hierbei konnte innerhalb von 89 Tagen nur bei Kaliumpermanganat und Silbernitrat in den Konzentrationen, die auch beim Roggensteinbrand am stärksten keimungsfördernd wirkten, eine schwache bzw. spurenweise Keimung beobachtet werden, während alle anderen Lösungen hier unwirksam blieben. In Wiederholungsversuchen wurde allerdings gelegentlich auch in Calciumnitratlösungen Sporenkeimung erhalten.

[1]) Es wurde die Ablesung dieses Tages angeführt, da die Keimung zu einem späteren Zeitpunkt zum Teil schon wieder etwas zurückging.

Tabelle 2

Sporenkeimung in Chemikalienlösungen verschiedener Konzentration

Sporenherkünfte 1953; je zwei Parallelversuche (a und b); Aufstellung der Versuchsschalen in relativer Dunkelheit bei + 3 ° C; wöchentliche Ablesung. Bonitierung des Keimverhaltens[1]): 0 = keine Keimung; I = bis 1 % Keimung; II = etwa 5 bis 10 % Keimung; III = bis 50 % Keimung; IV = über 50 % Keimung

Chemikalienlösung	Konzentr. %	Keimung der Sporen			
		Roggensteinbrand nach 43 Tagen		Zwergsteinbrand nach 89 Tagen	
		a	b	a	b
Wasser	—	I	II	0	0
Kaliumpermanganat	0,1	0	0	0	0
	0,01	IV	IV	0	II
	0,001	III	III	0	0
Calciumnitrat	1	IV	IV	0	0
	0,1	III	III	0	0
	0,01	III	III	0	0
Silbernitrat	0,001	0	0	0	0
	0,0001	III	III	0	I
	0,00001	I	II	0	0
Eisenammonsulfat	0,01	0	0	0	0
	0,001	III	III	0	0
	0,0001	0	I	0	0
Oxalsäure	0,01	0	0	0	0
	0,001	III	II	0	0
	0,0001	I	I	0	0
Wasserstoffperoxyd	0,1	I	II	0	0
	0.01	I	II	0	0
	0,001	II	II	0	0
Pyrogallol	0,01	0	0	0	0
	0,001	II	0	0	0
	0,0001	0	0	0	0
Natriumphosphat	0,1	0	0	0	0
	0,01	I	I	0	0
	0,001	0	I	0	0

[1]) Es ist zu beachten, daß die hier verwendete Bonitierung der Keimung nicht mit der im allgemeinen für die Keimung auf festem Substrat angegebenen Keimzahl verglichen werden darf.

Die Versuche zeigen, daß es möglich ist, Roggensteinbrandsporen ohne große Schwierigkeit nicht nur auf Schlämmboden, sondern auch in flüssigem Medium zur Keimung zu bringen, wobei sich im letzten Falle besonders Kaliumpermanganat- und Calciumnitratlösungen als wirksam erwiesen. Bei Zwergsteinbrand versagte diese Keimmethode; die Keimungsförderung durch Chemikalien erfolgt hier nur in Zusammenwirken mit dem Schlämmboden.

Während bei den vorhergehenden Versuchen auf Schlämmboden Zwergsteinbrand und Roggensteinbrand sich hinsichtlich der Beeinflussung durch Chemikalien durchaus gleichartig verhielten, besteht hier demnach ein Unter-

schied. Das ist ein weiterer Beitrag zu unserer Feststellung (5), daß der Roggensteinbrand keimungsphysiologisch zwischen Zwergsteinbrand und gewöhnlichen Steinbrand, der gleichfalls in flüssigem Medium gut keimt, einzuordnen ist, wobei er der ersten Art etwas näher steht.

V. Zeitpunkt der Chemikalieneinwirkung

Wir haben nachgewiesen (5), daß im Verlauf der Keimung bei Zwerg- und Roggensteinbrandsporen mehrere Abschnitte unterschieden werden müssen, die verschiedenartige Ansprüche an Belichtung und Temperatur stellen. Es war zu untersuchen, welcher Abschnitt hiervon für die Chemikalieneinwirkung besonders empfindlich ist.

In mehrfach wiederholten Versuchen wurden hierzu Zwerg- oder Roggensteinbrandsporen, die auf Schlämmboden ausgestrichen waren, zu verschiedener Zeit mit einer 10%igen Kaliumpermanganatlösung übergestrichen. Beim Zwergsteinbrand war die stärkste Keimungsförderung stets dann zu erhalten, wenn die Chemikalienbehandlung erst zwei bis fünf Wochen nach dem Ausstreichen der Sporen vorgenommen wurde. Behandlung unmittelbar nach dem Ausstreichen der Sporen ergab nur einen geringen Förderungseffekt. Auch beim Roggensteinbrand wirkte allgemein eine Behandlung mit Kaliumpermanganat in der zweiten bis vierten Woche nach dem Ausstreichen der Sporen günstiger als Zugabe bei Versuchsbeginn. Als Beispiel hierfür ist in Tabelle 3 ein Versuch wiedergegeben, bei dem der Schlämmboden in den Petrischalen mit den Sporenausstrichen durch Eindrücken mit der Kante eines Objektträgers in mehrere Sektoren geteilt war, die zu verschiedener Zeit mit 10%iger Kaliumpermanganatlösung übergestrichen wurden. Deutlich — in der Tabelle durch fetten Druck hervorgehoben — ist zu erkennen, wann und auf welchem Feld jeweils die stärkste Keimung auftrat. Bei späterer Permanganatbehandlung dauerte es zwar etwas länger (50 bis 67 Tage beim Zwergsteinbrand, 41 bis 67 Tage beim Roggensteinbrand), bis maximale Keimung erfolgt war, dafür war jedoch die erzielte Förderung im Vergleich zur Kontrolle wesentlich stärker, als wenn das Überstreichen bereits bei Versuchsbeginn vorgenommen wurde. Daß die frühe Permanganatgabe verhältnismäßig wenig wirksam war, dürfte wahrscheinlich darauf zurückzuführen sein, daß bis zu der Zeit, wo die Sporen hierfür besonders empfindlich waren, das Permanganat bereits teilweise im Schlämmboden inaktiviert war.

Ähnliche Versuchsreihen mit Kaliumpermanganatbehandlung nach verschiedener Zeit wurden bei Aufstellung unter künstlicher Belichtung durchgeführt. Auch hier ließ sich in allen Fällen sowohl bei Zwergsteinbrand wie bei Roggensteinbrand die Sporenkeimung durch diese Behandlung fördern; der Zeitpunkt der Permanganatanwendung war jedoch für die Stärke der Förderung von geringerer Bedeutung. Eine Permanganatgabe eine Woche nach Versuchsbeginn wirkte nicht oder nur wenig günstiger als eine solche gleich beim Ausstreichen der Sporen. Hinzu kommt, daß dieser Unterschied im weiteren Verlauf des Versuches bald ausgeglichen wurde. Dies unterschiedliche Ergebnis gegenüber Aufstellung in relativer Dunkelheit dürfte

Tabelle 3

Kaliumpermanganatwirkung auf die Sporenkeimung bei Zugabe nach verschiedener Zeit

Sporenherkünfte 1952. Ausstrich auf Schlämmboden. Aufstellung der Versuchsschalen in relativer Dunkelheit bei + 5 ° C. Überstreichen der Sporenausstriche mit 10%iger Kaliumpermanganatlösung

Sporen	Zeitpunkt der Behandlung mit Kaliumpermanganat	Keimzahl nach Tagen					
		30	41	50	57	67	76
Zwergsteinbrand	Unbehandelt	0	0,3	0,6	0,6	0,5	0
	beim Sporenausstrich	0,3	0,9	1	1	0,8	0
	1 Woche nach Sporenausstrich	**0,5**	1	1	1	0,7	0
	2 Wochen „ „	0,2	**1,5**	**2**	**2**	1,5	1
	3 „ „ „	0	1	**2**	**2**	1,5	1
	4 „ „ „	0	0,4	1,5	**2**	**2**	**1,5**
	5 „ „ „	0	0*)	1	**2**	**2**	**1,5**
	6 „ „ „	0	0*)	0*)	0,4	1	**1,5**
Roggensteinbrand	Unbehandelt	0,7	0,7	0,7	0,7	0,1	0
	beim Sporenausstrich	1	1	1	0,8	0,4	0,1
	1 Woche nach Sporenausstrich	**1,5**	1–2	1,5	1	0,5	0
	2 Wochen „ „	**1,5**	**2**	2	1,5	0,5	0
	3 „ „ „	0,8	**2**	2	1,5	0,8	0,4
	4 „ „ „	0*)	**2**	**2,5**	**2**	**2**	**1,5**
	6 „ „ „	0,6	1	0*)	1	1	1
	7 „ „ „	0,6	0,6	0*)	0,4	1	1

*) Die geringe Keimung bzw. der Keimungsrückgang gegenüber der vorhergehenden Ablesung ist eine Folge der kurz vorher erfolgten Permanganatbehandlung, da hierdurch die bereits gebildeten Sporidien zerstört wurden.

darin begründet sein, daß das Licht als zusätzlicher, gleichsinnig wie das Permanganat wirkender Faktor während der ganzen Versuchsdauer keimungsauslösend wirksam war.

Neben Kaliumpermanganat wurde noch Pyrogallol daraufhin untersucht, wieweit die keimungsfördernde Wirkung vom Zeitpunkt der Anwendung abhängig ist. Da sich bei dieser Verbindung der fördernde Konzentrationsbereich nicht so sicher feststellen ließ, wurde die Untersuchung nach der im Vorversuch (S. 122) angegebenen Strichmethode durchgeführt. Die Aufstellung erfolgte in relativer Dunkelheit bei + 5 ° C. Das Ergebnis war ähnlich wie für Kaliumpermanganat: wurde Pyrogallol sofort nach dem Ausstreichen der Sporen aufgetragen, so kam bei Zwerg- und Roggensteinbrandsporen nur eine schwache Förderungszone zur Ausbildung; wurde aber der Pyrogallolstrich bei Zwergsteinbrand erst vier, bei Roggensteinbrand zwei Wochen nach dem Ausstreichen der Sporen aufgetragen, so war der im Anschluß an die Hemmungszone auftretende Förderungsbereich sehr deutlich ausgeprägt. Die Abb. 1 (S. 128) zeigt die Wirkung des Pyrogallols auf Zwergsteinbrandsporen bei Anwendung nach dieser Methode.

Das Ergebnis dieser Versuche läßt sich nur so deuten, daß die Sporen — ähnlich wie bei der Empfindlichkeit für eine Belichtung (5) — erst nach Ablauf gewisser vorbereitender Prozesse volle Empfindlichkeit für die Chemikalienanwendung erlangen.

VI. Chemikalienwirkung bei absoluter Dunkelheit

In den bisher wiedergegebenen Versuchen wurden die zu prüfenden Substanzen bei relativer Dunkelheit oder in einzelnen Fällen bei künstlicher Belichtung gegen die Steinbrandsporen getestet. Es ergab sich nun in Zusammenhang mit unseren Untersuchungen über die Lichtabhängigkeit der Sporenkeimung des Zwerg- und Roggensteinbrandes (5) die Frage, ob zur Keimungsauslösung durch Chemikalien eine, wenn auch nur geringe, zusätzliche Belichtung erforderlich ist oder ob die Chemikalien ihre Wirksamkeit auch in absoluter Dunkelheit zu entfalten vermögen. GASSNER (7), der gleichfalls über die keimungsfördernde Wirkung von Kaliumpermanganat auf die Zwergsteinbrandkeimung berichtete, kam zu dem Ergebnis, daß nur bei gleichzeitig gebotener Belichtung das Kaliumpermanganat keimungsfördernd wirkte, in absoluter Dunkelheit blieb es wirkungslos.

Tabelle 4

Chemikalienwirkung auf die Sporenkeimung bei absoluter Dunkelheit

Sporenherkunft 1953. Ausstrich auf Schlämmboden. Aufstellung bei + 3 ° C. Chemikalienbehandlung der Roggensteinbrandsporen bei Versuchsbeginn, der Zwergsteinbrandsporen 26 Tage nach Versuchsbeginn

Behandlung der Sporen mit Chemikalien	Keimzahl	
	Roggensteinbrand nach 48 Tagen	Zwergsteinbrand nach 59 Tagen
Kontrolle unbehandelt	0,6	0,1
unbehandelte Schalenhälfte	0,6	0,3
Kaliumpermanganat 10 %	1,5	2
unbehandelte Schalenhälfte	0,5	0,4
Eisenammonsulfat 4 %	1,5	2
unbehandelte Schalenhälfte	0,7	0,1
Oxalsäure 10 %	2	1,5

Es wurden von uns in einem Vorversuch nach der Strichmethode (vgl. S. 122) sechs Verbindungen — Kaliumpermanganat, Wasserstoffperoxyd, Oxalsäure, Eisensulfat, Pyrogallol, Chlorkalk — hinsichtlich ihrer Wirksamkeit gegen Zwergsteinbrand bei absoluter Dunkelheit geprüft. Die Sporen wurden in Petrischalen auf Schlämmboden ausgestrichen und dann in lichtdicht verschlossenen Blechdosen bei +5 ° C aufgestellt. Nach vier Wochen wurden die Schalen bei völliger Dunkelheit entnommen, mit einem Strich der 10%igen Chemikalienanrührung (mit etwas Bolus angedickt) versehen und wiederum bei 5 ° C in absoluter Dunkelheit gehalten. Nach insgesamt 68 Tagen, also 40 Tage nach dem Aufstreichen der Chemikalien, wurde der Versuch abgelesen und damit abgebrochen. In allen Schalen war zu dieser Zeit eine eindeutige Förderungszone neben dem Chemikalienstrich zu erkennen, mit Keimzahlen von 0,6 bis 0,7 gegenüber 0 bis 0,1 auf den unbeeinflußt gebliebenen Sporenausstrichen in den Schalen.

Das Ergebnis dieses Vorversuches konnte in einer weiteren Versuchsreihe mit Kaliumpermanganat, Eisenammonsulfat und Oxalsäure bestätigt werden (Tabelle 4). Die Sporen wurden hierbei auf einer Hälfte des Schlämmbodens gründlich mit der betreffenden Chemikalienlösung übergestrichen, während die andere Hälfte unbehandelt blieb. Beim Zwergsteinbrand wurden die Lösungen erst 26 Tage nach dem Ausstreichen der Sporen übergestrichen.

Um das Überpinseln der Sporen in der einen Schalenhälfte, das gleichfalls bei völliger Dunkelheit vorgenommen wurde, zu erleichtern, war der Schlämmboden in der Mitte durch einen leicht eingedrückten Glasstab unterteilt. Die beiden Schlämmbodenhälften konnten so auch bei Dunkelheit nach dem Gefühl auseinandergehalten werden. Vor und nach dem Ausstreichen der Chemikalien wurden die Schalen in lichtdicht verschlossene Blechdosen eingestellt und bei + 3 ° C aufbewahrt. Die Ablesung erfolgte nach 59 Tagen. Beim Roggensteinbrand erfolgte die Chemikalienzugabe bereits bei Versuchsbeginn; die Ablesung wurde hier schon nach 48 Tagen vorgenommen.

Abb. 2. Chemikalienwirkung auf die Sporenkeimung des Zwergsteinbrandes bei absoluter Dunkelheit. Versuchsbedingungen siehe Tabelle 4. Aufnahme 59 Tage nach Versuchsbeginn. Jeweils obere Schalenhälfte unbehandelt; Sporenausstrich in der unteren Hälfte mit einer Lösung der angeführten Chemikalien übergepinselt

Das Ergebnis beider Versuche — für den Zwergsteinbrand außer in der Tabelle zusätzlich in der Abb. 2 wiedergegeben — ist eindeutig: Sowohl beim Zwergsteinbrand wie beim Roggensteinbrand entfalten alle drei Chemikalien auch bei absoluter Dunkelheit ihre volle fördernde Wirkung. Die Lichtwirkung, die unter natürlichen Verhältnissen zur Keimungsauslösung erforderlich ist, kann demnach völlig durch die Chemikalienbehandlung ersetzt werden.

Gassner (7) kam bei seinen Untersuchungen zu einem gerade entgegengesetzten Ergebnis, da er fand, daß ohne Belichtung Kaliumpermanganat in den verwendeten Konzentrationen praktisch wirkungslos blieb. Wahrscheinlich liegt dies in der Methodik begründet, da von ihm die stark verdünnte Kaliumpermanganatlösung bereits bei Versuchsbeginn den Sporen zugesetzt und nicht, wie bei uns, erst einige Zeit nach dem Ausstreichen der Sporen aufgetragen wurde. Wieweit bei derartigen Versuchen auch das verwendete Sporenmaterial unterschiedlich reagiert, läßt sich nicht übersehen. Auf jeden Fall zeigen diese gegensätzlichen Ergebnisse, wie stark die Wirksamkeit der Chemikalien von der Art der Anwendung abhängig ist.

Zur Auslösung der Sporenkeimung bei Zwerg- und Roggensteinbrand müssen unter natürlichen Verhältnissen zwei Bedingungen erfüllt sein: die

Einwirkung von Temperaturen unterhalb 10 ° C und von Licht. Nachdem unsere Untersuchungen ergeben hatten, daß die Lichteinwirkung durch geeignete Chemikalien ersetzt werden kann, blieb zu prüfen, ob sich auch der Temperaturfaktor in ähnlicher Weise durch Chemikalieneinwirkung ersetzen läßt, ob also bei Zusatz wirksamer Substanzen eine Sporenkeimung auch oberhalb einer Temperatur von 10 ° C erzwungen werden kann. Versuche in dieser Richtung wurden mit Zwergsteinbrandsporen unter Behandlung mit Kaliumpermanganatlösung in relativer Dunkelheit durchgeführt. Sie ergaben, daß eine Förderung bzw. Keimungsauslösung durch das Permanganat nur dann erfolgt, wenn die Sporenausstriche bei + 5 ° oder + 2 ° C aufgestellt wurden; nach Aufstellung bei Temperaturen von 12 ° C oder darüber blieb das Kaliumpermanganat wirkungslos. Die Einwirkung einer keimgünstigen tiefen Temperatur ist demnach nicht durch Chemikalien zu ersetzen und scheint für die Keimung unumgänglich erforderlich zu sein.

VII. Diskussion

Zur Durchführung künstlicher Infektionen mit Zwerg- und Roggensteinbrand hat sich die Verwendung vorgekeimter Sporidien als Infektionsmaterial als vorteilhaft erwiesen (GASSNER und NIEMANN 6). Eine sichere und natürliche Methode zur Anzucht solcher Sporidien ist nach den Untersuchungen von GASSNER (7), BÖNING, WAGNER und v. MINCKWITZ (1), PICHLER (12) und GASSNER und NIEMANN (5) die Aufstellung der Sporenausstriche bei einer Temperatur von + 3 bis + 5 ° C unter künstlicher Belichtung. Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß eine Sporidienanzucht darüber hinaus auch bei Dunkelheit möglich ist. Hierfür ist sowohl für Zwergsteinbrand wie für Roggensteinbrand folgende Anzuchtmethode zu empfehlen: Ausstreichen der Sporen auf Schlämmboden, Aufstellung bei Temperaturen von + 3 bis + 5 ° C in relativer Dunkelheit, nach zwei bis vier Wochen gründliches Überstreichen der Sporenausstriche mit einer 10%igen Kaliumpermanganatlösung und weitere Aufstellung unter gleichen Bedingungen. Beim Zwergsteinbrand war etwa vier bis fünf Wochen nach der Permanganatbehandlung (nach einer Gesamtkulturdauer von sieben bis neun Wochen), beim Roggensteinbrand drei bis vier Wochen nach der Chemikalienanwendung (insgesamt nach sechs bis acht Wochen Kulturdauer) eine genügend starke Keimung und Sporidienbildung erfolgt, die durchaus der unter künstlicher Belichtung erzielbaren Keimung vergleichbar war. Die Sporen des Roggensteinbrandes lassen sich außerdem auch schon mit gutem Erfolg direkt in Calciumnitrat- oder Kaliumpermanganatlösungen zur Keimung bringen, so daß hier auf die Verwendung von Schlämmboden als Keimsubstrat verzichtet werden kann.

Neben dem besonders wirksamen Kaliumpermanganat sind noch andere, sehr verschiedenartige Substanzen keimungsfördernd wirksam. Da nur eine geringe Anzahl von Verbindungen — insgesamt 31 — von uns in dieser Hinsicht geprüft wurde, von denen sich 14 als keimungswirksam erwiesen, ist anzunehmen, daß darüber hinaus noch weitere, hier nicht berücksichtigte

Verbindungen eine stimulierende Wirkung auf die Sporenkeimung des Zwerg- und Roggensteinbrandes auszuüben vermögen. Von besonderer Bedeutung erscheint uns dabei die Frage, ob sich auch unter den zur Düngung und Beizung des Getreides verwendeten Substanzen solche befinden, welche unter natürlichen Verhältnissen im Boden die Mitwirkung des Lichtes zu ersetzen und so die Steinbrandkeimung auszulösen oder zu fördern vermögen.

Die Möglichkeit einer Bekämpfung des Zwergsteinbrandes wie überhaupt der Verhinderung einer Bodenübertragung des Steinbrandes durch Anwendung quecksilberhaltiger Beizmittel ist bekanntlich noch sehr umstritten. Bereits Rabien (13) konnte bei seinen Untersuchungen mit Sporen des gewöhnlichen Steinbrandes feststellen, daß alle von ihm geprüften quecksilberhaltigen Beizmittel (Germisan, Segetan, Agfa u. a.) bei entsprechender Testmethode außer einer Hemmung auch eine sehr starke Reizwirkung auf die Sporenkeimung ausüben. Auch in unseren Versuchen ließ ein solches Mittel eine gewisse fördernde Wirkung auf die Keimung der Zwergsteinbrandsporen erkennen; ähnliche Hinweise sind aus der Arbeit von Böning, Wagner und v. Minckwitz (1, S. 65) zu entnehmen. Solange nur eine Saatgutübertragung der Steinbrandsporen berücksichtigt werden mußte, konnte eine mögliche fördernde Wirkung stärkerer Verdünnungen eines Beizmittels vernachlässigt werden, da das Beizmittel zumeist in vielfacher Überdosierung auf die am Korn haftenden Sporen zur Einwirkung gelangt. Anders müßte eine solche Erscheinung bei der Beurteilung von Beizmitteln im Hinblick auf die Bodenübertragung des Steinbrandes bewertet werden. Hier wäre es denkbar, daß bei Aussaat des mit solchen Mitteln gebeizten Getreides in steinbrandverseuchte Böden in der Umgebung des Korns sich ein Förderungsbereich des Quecksilbermittels ausbildet. Die in dieser Zone befindlichen Sporen würden dadurch nicht nur nicht gehemmt, sondern könnten sogar in der Keimung begünstigt werden. Für eine derartige Wirkung einer Saatgutbehandlung könnten die Ergebnisse von Wagner (15) sprechen, der bei Bekämpfungsversuchen des Zwergsteinbrandes nach Beizung mit einem quecksilberhaltigen Mittel wie auch bei Anwendung von 20%igem Tritisan eine deutliche Befallssteigerung erhielt, während Tritisan bei Anwendung in stärkeren Konzentrationen den Befall herabsetzte bzw. verhinderte.

Dieser Fragenkomplex einer möglichen fördernden Wirkung von Beizmitteln auf die Sporenkeimung des Zwerg- und Roggensteinbrandes bedürfte demnach dringend einer weiteren Bearbeitung. Zu berücksichtigen wäre dabei auch eine Keimungsbeeinflussung durch Düngemittel, da bereits Rabien (13) u. a. eine starke Reizwirkung verschiedener Ammoniumsalze und Nitrate auf die Keimung des gewöhnlichen Steinbrandes feststellte. Wenn Ammoniumsalze auch bisher in unseren Vorversuchen (S. 123) keine derartige Wirkung auf die Zwergsteinbrandkeimung erkennen ließen, so bedürfte dieser Befund doch einer nochmaligen Überprüfung unter verschiedenartigen Bedingungen. Bei den Düngemitteln sind endlich auch die Angaben verschiedener Autoren über den Einfluß des Kalkstickstoffs auf den Zwergsteinbrand-

befall (WARMBRUNN 16, WAGNER 15, RADEMACHER 14, PICHLER 12) durchaus widersprechend und erfordern weitere Untersuchungen[1]).

Bei Betrachtung der Versuchsergebnisse ergibt sich die Frage nach der Wirkungsweise der einzelnen Verbindungen. RABIEN (13) vertritt bezüglich des gewöhnlichen Steinbrandes die Ansicht, daß bei der Mehrzahl der von ihm für keimungsfördernd befundenen Verbindungen die Wirkung über eine Verbesserung der Sauerstoffversorgung erfolgt, sei es direkt durch Abspalten von Sauerstoff (z. B. beim Kaliumpermanganat) oder indirekt durch eine Beeinflussung der Sauerstoff abgebenden Bodenmikroflora. Der gleichen Ansicht ist GASSNER (7) hinsichtlich der Wirkung des Kaliumpermanganats auf die Zwergsteinbrandkeimung. BÖNING, WAGNER und v. MINCKWITZ (1) konnten in ihren Versuchen allerdings keine Förderung der Zwergsteinbrandkeimung durch Zugabe von Sauerstoff erzielen; und auch in unseren Versuchen spricht manches gegen eine derartige indirekte Wirkung der Chemikalien über eine Verbesserung der Sauerstoffversorgung. Die keimungsauslösenden Verbindungen (Wasserstoffperoxyd, Kaliumpermanganat, Oxalsäure, Pyrogallol, Tannin, Eisensalze, Silbernitrat u. a.) erscheinen uns zu verschiedenartig, um in allen Fällen auf diese Weise wirken zu können. Hinzu kommt, daß in unseren Versuchen bei allen Verbindungen der Förderungseffekt immer eng auf die behandelten Sporen begrenzt war und nie — auch nicht bei Zugabe des stark Sauerstoff abspaltenden Wasserstoffperoxyds — auf die in der gleichen Schale befindlichen unbehandelten Sporenausstriche übergriff, wie man es beim Vorliegen einer gasförmigen Sauerstoffwirkung erwarten müßte. Immer nur in einem schmalen Bereich neben den aufgetragenen Chemikalienlösungen — soweit diese nämlich in den Schlämmboden diffundiert waren — zeigte sich die hemmende oder fördernde Wirkung dieser Verbindungen auf die Sporenkeimung. Besonders deutlich tritt dies in der Abb. 1 hervor, da hier der Diffusionsbereich des Pyrogallols an der dunklen Verfärbung des Schlämmbodens kenntlich ist. Wenn auch ohne Zweifel eine ausreichende Sauerstoffversorgung der Sporen als Vorbedingung für die Keimungsauslösung erforderlich ist, wie es RABIEN (13) an den Sporen des gewöhnlichen Steinbrandes zeigte, so kann der Stimulationseffekt der Chemikalien doch nicht allein auf diesem Umweg über die Gasphase erklärt werden, sondern es muß daneben ein unmittelbarer Einfluß der gelösten Substanzen angenommen werden.

Die Tatsache, daß die keimungsauslösende Wirkung der Chemikalien bei Zwergsteinbrandsporen nur auf Schlämmboden, nicht aber in Lösungen der Chemikalien möglich war, deutet allerdings darauf hin, daß für diese Sporenart in irgendeiner Form eine Mitwirkung des Schlämmbodens erfolgen muß, bevor die Keimung ausgelöst werden kann. Welcher Art dieser

[1]) In einem inzwischen mit gleicher Methode wie auf S. 122 durchgeführten Vorversuch zu dieser Frage wurde festgestellt, daß bei Zwergsteinbrandsporen durch Überstreichen mit den Stickstoffdüngemitteln: Nitrophoska, Schwefelsaures Ammoniak oder Kalkammonsalpeter eine Keimungsförderung erzielt werden konnte. Bei Roggensteinbrandsporen war die Keimung durch Kalkstickstoffbehandlung zu fördern. Diese Ergebnisse bedürfen noch weiterer Bestätigung.

im Schlämmboden wirksame Faktor sein könnte — biologischer, chemischer oder physikalischer Natur —, läßt sich vorerst nicht sagen.

Bei der Auslösung der Sporenkeimung können sich Licht und Chemikalien gegenseitig ersetzen. Beide Faktoren entfalten dann größte Wirksamkeit, wenn sie erst einige Zeit nach dem Ausstreichen der Sporen zur Anwendung gelangen. Dies läßt vermuten, daß bei beiden die Einwirkung auf den Keimungsvorgang auf ähnliche Weise erfolgt.

Für lichtgeförderte Samen wurden in jüngster Zeit von PAECH (11) Anschauungen dargelegt, nach denen die Keimungsauslösung durch Licht oder Chemikalien bei diesem Samentyp auf eine Auflockerung bzw. Erweichung der für Sauerstoff undurchlässigen Samenschale zurückgeführt werden kann. Trotz vieler Übereinstimmungen bei der Keimung von lichtgeförderten Samen und von Steinbrandsporen ist es jedoch nicht möglich, diese PAECHschen Anschauungen (11) auch zur Erklärung der Keimungsauslösung bei Zwerg- und Roggensteinbrandsporen heranzuziehen, da die Testa dieser Samen und die Membran der Steinbrandsporen in Bau und chemischer Zusammensetzung zu verschieden sind.

Die Frage nach dem Mechanismus der Keimungsauslösung durch Licht und Chemikalien bei Zwerg- und Roggensteinbrandsporen muß daher vorerst offenbleiben. Dies um so mehr, als sich bisher ein gemeinsames wirksames Prinzip bei den verschiedenartigen keimungsfördernden Chemikalien nicht erkennen läßt.

Unter den wirksamen Verbindungen befinden sich reduzierende und oxydierende, organische und anorganische, sauer oder basisch reagierende Substanzen. Bei den anorganischen Salzen, wie Silbernitrat und Bleinitrat, läßt sich zudem nicht sagen, ob das Nitration oder das Kation die Wirkung bedingt. Als einziges Gemeinsames läßt sich vielleicht angeben, daß es sich zum größten Teil um Substanzen mit ausgesprochenem Redox-Charakter handelt. Da jedoch daneben auch einige andere Verbindungen, wie Oxalsäure oder Natriumphosphat, die nicht in diese Gruppe eingeordnet werden können, keimungswirksam sind, muß es unentschieden bleiben, wieweit diesem Faktor eine Bedeutung zukommt.

Zusammenfassung

1. Bei Untersuchungen über die Beeinflussung der Sporenkeimung des Zwergsteinbrandes durch verschiedene chemische Verbindungen ergab sich, daß bei relativer Dunkelheit von 31 untersuchten Substanzen 14 — darunter Kaliumpermanganat, Oxalsäure, Eisensalze, Wasserstoffperoxyd, Pyrogallol, Tannin, Silbernitrat — mehr oder weniger keimungsfördernd wirkten. Soweit geprüft, konnten die gleichen Substanzen auch die Sporenkeimung des Roggensteinbrandes stimulierend beeinflussen.
2. Bei Zwergsteinbrand trat die fördernde Wirkung nur in Erscheinung, wenn die mit den Chemikalien behandelten Sporen auf Schlämmboden ausgestrichen wurden. Roggensteinbrandsporen konnten bei Dunkelheit darüber hinaus auch in Lösungen von Kaliumpermanganat, Calciumnitrat, Silbernitrat, Eisenammonsulfat und Oxalsäure zur Keimung gebracht werden.

3. Kaliumpermanganat und Pyrogallol wirkten bei relativer Dunkelheit auf Zwerg- und Roggensteinbrand am stärksten keimungsfördernd, wenn die Chemikalienbehandlung erst zwei bis vier Wochen nach dem Ausstreichen der Sporen vorgenommen wurde. Dies spricht dafür, daß — ähnlich wie bei der Lichtwirkung — die Sporen erst nach Ablauf einer gewissen Sensibilisierungszeit volle Empfindlichkeit für die Chemikalienwirkung erlangen.
4. Kaliumpermanganat, Oxalsäure und Eisenammonsulfat, wahrscheinlich auch der größte Teil der anderen keimungswirksamen Verbindungen, entfalteten auch bei absoluter Dunkelheit ihre volle fördernde bzw. keimungsauslösende Wirkung. Die normalerweise zur Sporenkeimung nötige Belichtung läßt sich demnach durch diese Verbindungen völlig ersetzen. Ein Ersatz der zur Sporenkeimung nötigen tiefen Temperaturen durch Chemikalienbehandlung war nicht möglich.

Literaturverzeichnis

1. Böning, K., Wagner, F. und v. Minckwitz, A., 1953: Untersuchungen zur Keimungsbiologie und Beizung der Sporen des Zwergsteinbrandes an Weizen. Z. f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz 4, 49—71.
2. Fischer, G. W., 1952: *Tilletia brevifaciens* sp. nov., causing dwarf bunt of wheat and certain grasses. Res. Stud. State Coll. of Wash. 20, 11—14.
3. Gassner, G., 1925: Ein einfacher Nachweis der stimulierenden Wirkung von Giften und anderen Stoffen auf die Keimung und Entwicklung von Brandsporen. Zellstimulationsforschung, 1, 467.
4. — —, 1951: Über Gaswirkungen quecksilberhaltiger Beizmittel. Nachr.-Bl. d. dtsch. Pflanzenschutzdienstes 3, 113—117.
5. — — und Niemann, E., 1954: Untersuchungen über die Temperatur- und Lichtabhängigkeit der Sporenkeimung verschiedener *Tilletia*-Arten. Phytopath. Z. 21, 367—394.
6. — — und — —, 1954: Über die Infektion von Weizen und Roggen durch verschiedene *Tilletia*-Arten. Phytopath. Z. 22, 109—124.
7. Gassner-Hoechst, G. G., 1953: Untersuchungen über Keimungsbedingungen und Bekämpfungsmöglichkeiten beim Zwergbrand *(Tilletia brevifaciens)* im Laboratorium. Phytopath. Z. 21, 53—62.
8. Hahne, J., 1923: Untersuchungen über die Keimungsbedingungen von *Tilletia*-Sporen. Dissertation Halle.
9. Hiltner, L. und Kinzel, W., 1906: Über die Ursachen und die Beseitigung der Keimungshemmungen bei verschiedenen praktisch wichtigeren Samenarten. Naturwiss. Z. Land- u. Forstwirtschaft 4.
10. Lowther, C. V., 1948: Low temperature as a factor in the germination of dwarf bunt chlamydospores. Phytopathology 38, 309—310.
11. Paech, K., 1953: Über die Lichtkeimung von *Lythrum salicaria.* (Ein Beitrag zur Physiologie der Polyphenole.) Planta 41, 525—566.
12. Pichler, F., 1953: Zur Frage der Keimung von Roggen- und Zwergsteinbrandsporen. Pflanzenschutz-Berichte 11, 12—17.
13. Rabien, H., 1927: Über Keimungs- und Infektionsbedingungen von *Tilletia tritici.* Arb. a. d. Biol. Reichsanstalt f. Land- u. Forstwirtsch. 15, 297—353.
14. Rademacher, B., 1951: Untersuchungen über die fungistatische und fungizide Wirkung des Cyanamids am Beispiel des Weizensteinbrandes (*Tilletia tritici* [Bjerk.]. Winter). Phytopath. Z. 17, 353—373.
15. Wagner, F., 1952: Neue Ergebnisse zur Bekämpfung des Zwergsteinbrandes. Z. f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz 3, 84—89.
16. Warmbrunn, K., 1952: Untersuchungen über den Zwergsteinbrand. Phytopath. Z. 19, 441-482.

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich

Die Dosis-Effekt-Beziehungen bei Lycomarasmin und Komplexon III[1])

Von

E. Gäumann und St. Naef-Roth

Mit 2 Abbildungen und 2 Tabellen

Die Beziehungen zwischen der verabreichten Dosis bzw. der verwendeten Konzentration einerseits und dem erzielten Effekt anderseits werden in der Pharmakologie zumeist graphisch abgetragen. Die auf diese Weise gewonnenen Dosis-Effekt-Kurven lassen sich in manchen Fällen bestimmten Kurventypen zuordnen; so können sie, wenn sowohl die Abszisse als die Ordinate im linearen Maßstab gezeichnet werden, geradlinig verlaufen (z. B. in gewissen Fällen der Depression von Reflexen durch aliphatische Narkotica); oder sie können bloß bei semilogarithmischer Darstellung (Abszisse logarithmisch, Ordinate linear) geradlinig verlaufen (z. B. die Depression von Reflexen durch Morphin); oder sie können, bei ebenfalls semilogarithmischer Darstellung, sigmoid verlaufen (Alles-oder-Nichts-Effekt; z. B. gewisse Wirkungen des Acetylcholins) usw.

Zuverlässige Schlußfolgerungen über den physikalisch-chemischen Mechanismus der Wirkung des verabreichten Stoffes lassen sich in der Regel aus diesen Kurven nicht ziehen. Wir wissen ja nicht, wieviel Toxin in Wirklichkeit bei den verschiedenen Dosen an den Ort der spezifischen Wirksamkeit hingelangte und dort fixiert wurde; und wir wissen in der Regel auch nicht, wie manche unterschiedliche (und vielleicht sogar konträr wirkende) Reaktionskette unter der Einwirkung des verabreichten Stoffes abzulaufen begann. Wir kennen somit im gesamten Reaktionsgeschehen nur das Anfangsglied (eben die Abszisse, d. i. die verabreichte Dosis) und das Endglied (die Ordinate, d. s. die für uns visuell erkennbaren oder meßbaren Schädigungssymptome). Auf welche Weise jedoch dieses Endglied als Resultante aus verschiedenartigen Komponenten zustande kommt, muß durch andere Methoden erforscht werden.

[1]) Die vorliegende Arbeit wurde durch den schweizerischen Nationalfonds zur Förderung wissenschaftlicher Forschung unterstützt; wir möchten seinen Behörden auch hier unsern Dank wiederholen.

Die biologische Bedeutung der Dosis-Effekt-Kurven ist somit beschränkt; dennoch schien es uns von Interesse, einmal für zwei Stoffe, mit denen wir zur Zeit arbeiten, derartige Kurven aufzunehmen, nämlich für das Lycomarasmin (ein Welketoxin des *Fusarium lycopersici*, eines Erregers einer infektiösen Welkekrankheit bei Tomatenpflanzen) und für das Komplexon III, das Dinatriumsalz der Aethylendiamintetraessigsäure, das bei jungen Tomatenpflanzen ähnliche Schädigungen auslöst wie das Lycomarasmin und das wir deshalb als Modell einer Substanz verwenden, die mit Metallionen wasserlösliche Chelate bildet (GÄUMANN und NAEF-ROTH, 1954).

Die Wahl fiel auf diese beiden Stoffe, weil sie bei jungen Tomatensprossen in spezifischer Weise nur die Blattspreiten schädigen (ausgenommen das Komplexon III, das bei sehr hohen Dosen auch die Stengel in Mitleidenschaft zieht); ihr Schädigungsbild verändert sich somit bei steigenden Dosen nur quantitativ, nicht auch qualitativ, und kann deshalb in einer Indexzahl ausgedrückt werden.

Es wurden also in üblicher Weise im Gewächshaus unter definierten Bedingungen junge Tomatenpflanzen der Sorte Tuckswood herangezogen, abgeschnitten, in die Toxinlösung gestellt, bis sie die vorgesehene Toxinmenge aufgenommen hatten, dann in Leitungswasser zurückgebracht, in einem Raum mit konstanten Temperatur-, Feuchtigkeits- und Lichtverhältnissen belassen und nach 48 Stunden auf den Welke-Effekt hin bonitiert.

Für das Lycomarasmin verwendeten wir das früher beschriebene Bewertungsschema:

Index 1 = Blattspitzen geschädigt.
Index 2 = Blattspitzen und Blattränder an den ersten drei Fiederblättchen geschädigt. Nekrosen in den Interkostalfeldern.
Index 3 = Blattspitzen und Blattränder an sämtlichen Fiederblättchen geschädigt. Nekrosen auf sämtlichen Interkostalfeldern.
Index 4 = Gesamte Blattlamina nekrotisch.

Die Schädigungsbilder für diese vier Intervalle sind, soweit sie sich im Schwarz-Weiß-Bild festhalten lassen, bei LINSKENS (1955, Abb. 1 bis 4) photographisch wiedergegeben. Beim Komplexon III erfolgte die Bonitierung in ähnlicher Weise.

Die hier mitgeteilte Lycomarasmin-Reihe umfaßt je 15, die Komplexon-III-Reihe je 20 Tomatenpflanzen pro Stufe. Aus den 15 bzw. 20 Einzeldaten wurden für jede Stufe der Mittelwert und die Streuung berechnet.

In beiden Kurven fehlt das unterste Ansatzstück, nämlich das Intervall zwischen den Dosen 0 und 75 mg je kg Lebendgewicht beim Lycomarasmin und zwischen 0 und 116,25 mg je kg Lebendgewicht beim Komplexon III. Der Grund liegt darin, daß diese niedrigen Intervalle durch unsere Bonitierungsart nicht erfaßt werden. Unsere Schädigungsindizes bewerten ja nur die manifesten Schädigungen, nämlich die Nekrosen bestimmter Gewebe. Erst

wenn diese örtlich-letalen Schädigungen für uns Menschen erkennbar werden, setzt in Tabelle 1 und 2 die Bonitierung ein. In unserer Bonitierungsart liegt somit eine verkappte „Alles-oder-Nichts"-Reaktion verborgen, die erst mit dem „Alles", eben mit dem Auftreten von letalen Schädigungen in bestimmten Geweben, einsetzt.

Auch nach oben hin konnte die eine der beiden Kurven, nämlich für das Lycomarasmin, nicht ganz zu Ende geführt werden; sie bricht bei der Dosis von 1800 mg je kg Lebendgewicht und bei einer durchschnittlichen Blattschädigung von 2,8 ab; leider stehen uns von diesem Toxin nicht unbeschränkte Mengen zur Verfügung, und die 15fache Wiederholung jeder Versuchsstufe verschlingt naturgemäß bedeutende Materialmengen.

Die in diesen zwei Versuchsreihen verwendeten Tomatenpflanzen erwiesen sich überdies als verhältnismäßig toxinwiderstandsfähig (Gäumann und Naef-Roth, 1953); die Schädigungsindizes für eine bestimmte Toxindosis liegen deshalb relativ niedrig. Doch spielt die absolute Lage des Nullpunktes für das hier zur Diskussion stehende Problem keine besondere Rolle, da jede Versuchsreihe auf einmal durchgeführt wurde und deshalb in sich vergleichbar ist.

Tabelle 1

Die schädigende Wirkung steigender Mengen von Lycomarasmin auf junge Tomatenpflanzen

Jede Pflanze erhielt die in der ersten Spalte angegebene Toxinmenge in der Konzentration von $5 \cdot 10^{-3}$ molar verabreicht. pH 6,5. Je 15 Pflanzen pro Stufe

Dosis in mg je kg Lebendgewicht	Welke-Index	
	Stengel	Blätter
75	0	0,23 ± 0,25
150	0	0,69 ± 0,30
300	0	1,26 ± 0,27
600	0	1,76 ± 0,34
750	0	1,85 ± 0,40
900	0	2,25 ± 0,36
1050	0	2,29 ± 0,26
1200	0	2,42 ± 0,34
1500	0	2,55 ± 0,26
1800	0	2,78 ± 0,07

Tabelle 1 und 2 und Abb. 1 und 2 bestätigen zunächst die schon früher (Gäumann und Naef-Roth, 1954) mitgeteilte Beobachtung, wonach die Giftigkeit des Lycomarasmins für junge Tomatenpflanzen diejenige des Komplexons III in dem von uns geprüften Bereich ganz erheblich übertrifft; denn die Schädigungskurve des Lycomarasmins verläuft deutlich oberhalb derjenigen des Komplexons III.

Ferner geht aus den Abb. 1 und 2 hervor, daß sich die Schädigungsindizes sowohl beim Lycomarasmin als beim Komplexon III in dem von uns ge-

Tabelle 2

Die schädigende Wirkung steigender Mengen von Komplexon III auf junge Tomatenpflanzen

Jede Pflanze erhielt die in der ersten Spalte angegebene Toxinmenge in der Konzentration von $2 \cdot 10^{-2}$ molar verabreicht. pH 4,0. Je 20 Pflanzen pro Stufe

Dosis in mg je kg Lebendgewicht	Welke-Index	
	Stengel	Blätter
116,25	0	$0{,}13 \pm 0{,}13$
232,5	0	$0{,}20 \pm 0{,}13$
465	0	$0{,}34 \pm 0{,}20$
930	0	$0{,}66 \pm 0{,}25$
1860	0	$2{,}11 \pm 0{,}33$
3720	1,3	$3{,}98 \pm 0{,}08$

prüften Bereich in eindeutiger Weise in Gestalt einer Geraden anordnen, und zwar beim Lycomarasmin bei semilogarithmischer Darstellung (Abb. 2; also ähnlich wie bei dem eingangs zitierten Beispiel des Morphins), beim Komplexon III dagegen bei linearer Darstellung (Abb. 1; also ähnlich wie bei dem eingangs zitierten Beispiel der aliphatischen Narkotica).

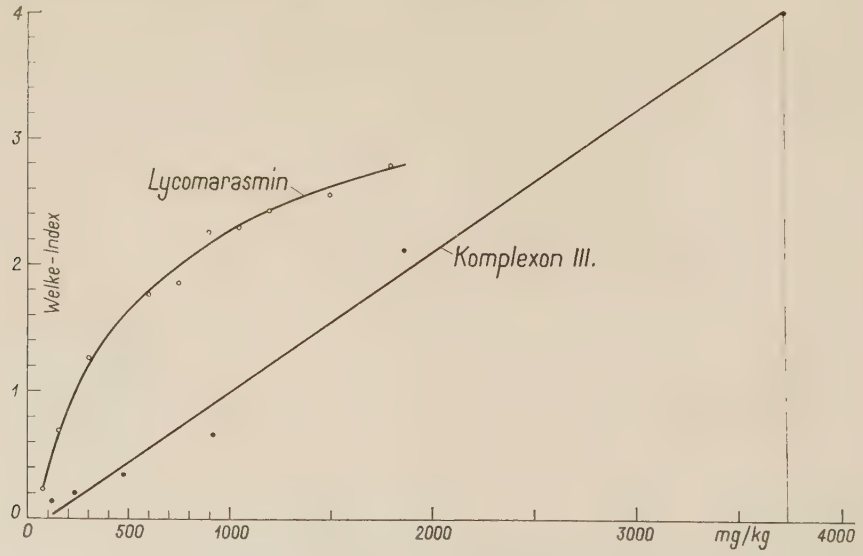


Abb. 1. Die Wirkung steigender Mengen von Lycomarasmin und von Komplexon III auf junge Tomatenpflanzen, in linearer Darstellung. Abszisse: Verabreichte Dosis. Ordinate: Welke-Index

Der lineare Verlauf der Dosis-Effekt-Kurve des Komplexons III im linearen Koordinatensystem könnte als einfacher Fall einer Beziehung interpretiert werden, wonach das Komplexon III im Innern der Wirtszellen mit

steigenden Dosen auch immer adaequat steigende Mengen von Rezeptoren absättigt, und zwar stets gleichmäßig steigend, bis an den Schluß der Kurve. So einfach liegen die Dinge sicher nicht; denn auf den Komplexon-Molekeln erfolgt im Innern der Zellen ein komplizierter und undurchsichtiger Aus- und Abtausch der verschiedenen Metallionen. Wenn sich also bei jungen Tomatensprossen der pathologische Endeffekt dieser wirren und labilen Vorgänge schlußendlich in Gestalt einer simpeln Geraden ausdrückt, so bedeutet dies eine gröbliche Vereinfachung des Sachverhaltes, vielleicht bedingt durch die Struktur unseres Bonitierungsschemas, das ja, wie oben ausgeführt, auf dem „Alles-oder-Nichts"-Prinzip aufbaut.

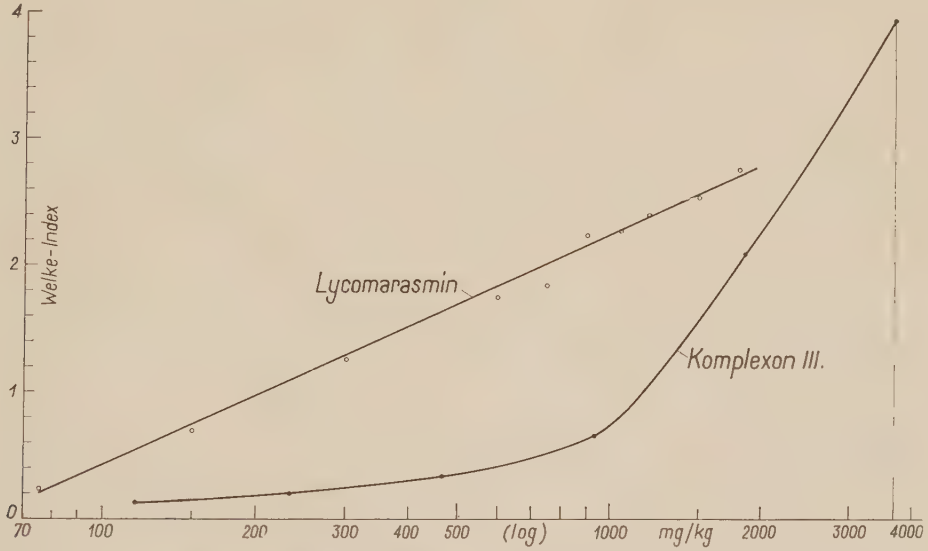


Abb. 2. Die Wirkung steigender Mengen von Lycomarasmin und von Komplexon III auf junge Tomatenpflanzen, in semilogarithmischer Darstellung. Abszisse: Logarithmus der verabreichten Dosis. Ordinate: Welke-Index

Wir möchten deshalb weder beim Komplexon III noch beim Lycomarasmin aus dem besonderen Verlauf ihrer Dosis-Effekt-Kurve eine Deutung ihres Wirkungsmechanismus abzuleiten versuchen. Nur das eine dürfen wir mit Sicherheit aus dem unterschiedlichen Kurvenverlauf schließen, daß sich nämlich ihre Schädigungsbereiche im Innern der jungen Tomatenpflanzen nur teilweise decken.

Zusammenfassung

Für das Lycomarasmin (einem Welketoxin des *Fusarium lycopersici*, des Erregers einer infektiösen Welkekrankheit der Tomatenpflanzen) und für das Komplexon III, das Dinatriumsalz der Aethylendiamintetraessigsäure, das wir als Modell einer Substanz verwenden, welche mit

Metallionen wasserlösliche Chelate bildet und bei jungen Tomatensprossen ähnliche Schädigungsbilder auslöst wie das Lycomarasmin, wurden unter konstanten äußeren Bedingungen die Dosis-Effekt-Kurven aufgenommen. Sie entsprechen in dem von uns geprüften Bereich bei beiden Toxinen einer Geraden, und zwar beim Lycomarasmin bei semilogarithmischer Darstellung und beim Komplexon III bei linearer Darstellung.

Aus diesem unterschiedlichen Verlauf der Dosis-Effekt-Kurven wird geschlossen, daß sich die Schädigungsbereiche der beiden Toxine im Innern der jungen Tomatenpflanzen nur teilweise decken.

Literaturverzeichnis

GÄUMANN, E. und NAEF-ROTH, St.: Über den jahreszeitlichen Gang der Welketoxin-Empfindlichkeit der Tomatenpflanzen. Phytopath. Z., **20**, 449—458, 1953.

— —: Über die chelierende Wirkung einiger Welketoxine I. l. c., **21**, 349—366, 1954.

LINSKENS, H. F.: Der Einfluß der toxigenen Welke auf die Blattausscheidungen der Tomatenpflanze. l. c., **23**, 89—106, 1955.

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich

Über die chelierende Wirkung einiger Welketoxine*)

II. Die Verschiebungen der Toxizität durch steigende Zusätze von Asche aus jungen Tomatensprossen

Von

E. Gäumann und St. Naef-Roth

Mit 3 Abbildungen und 8 Tabellen

Inhalt: Einleitung. — 1. Kapitel. Der Einfluß steigender Zusätze von Tomatensproßasche I auf die Welkewirkung des Lycomarasmins. — 2. Kapitel. Der Einfluß steigender Zusätze der Tomatensproßaschen II und III auf die Welkewirkung des Komplexons III und des Lycomarasmins. — Zusammenfassung. — Literatur.

Einleitung

In einer ersten Mitteilung (Gäumann und Naef-Roth, 1954) haben wir im Anschluß an die Ausführungen von Deuel (1954) mit der Prüfung der Frage begonnen, ob Welketoxine im Innern des Wirtes neben ihren sonstigen Schädigungsmöglichkeiten auch als Komplexbildner wirken und einen Teil der für den Enzymstoffwechsel des Wirtes lebenswichtigen Metallionen blockieren.

Als Modellsubstanz eines Chelatbildners verwendeten wir das Dinatriumsalz der Äthylendiamintetraessigsäure, das unter dem Namen Komplexon III in den Handel gebracht wird (Schwarzenbach, 1952; Schwarzenbach und Ackermann, 1947); denn es löst bei jungen Tomatensprossen schon für sich allein ähnliche Schädigungen aus wie die in Frage stehenden Welketoxine (es greift also wahrscheinlich den Wirt an einer ähnlichen Stelle und in ähnlicher Weise an wie die in Frage stehenden parasitogenen Toxine) und bildet überdies mit den Metallionen wasserlösliche Chelate.

Werden einer Lösung von Komplexon III steigende Mengen von Asche aus jungen Tomatensprossen zugesetzt, so nimmt im suboptimalen Bereich die

*) Die vorliegende Arbeit wurde durch den schweizerischen Nationalfonds zur Förderung wissenschaftlicher Forschung unterstützt; wir möchten seinen Behörden auch hier unseren Dank wiederholen.

schädigende Wirkung des Komplexons III auf die jungen Tomatensprosse mit zunehmender Steigerung der Aschenzusätze ab; hernach durchläuft die Schädigungskurve ein Minimum und ändert darauf den Richtungssinn; eine noch weitere Steigerung der Aschenzusätze führt nunmehr im supraoptimalen Bereich der Schädigungskurve zu einer Zunahme der Schädigungsintensität bei jungen Tomatensprossen, wobei sich die Syndrome auch qualitativ verschieben.

Diese Änderung im Richtungssinne der Schädigungskurve und in der Ausprägung des Krankheitsbildes beruht offenbar darauf, daß der Chelatbildner im Falle unserer Versuchsanordnung mit steigenden Zusätzen von Metallionen seine Funktion ändert. Im suboptimalen Bereich nimmt er dem Wirt durch Blockierung lebenswichtige Metallionen weg und bewirkt dadurch Mangelschäden; das Krankheitsbild entspricht deshalb im suboptimalen Bereich den Symptomen einer reinen Komplexonvergiftung. Durch steigende Zusätze von Tomatensproßasche wird die Chelierungsfähigkeit des Komplexbildners allmählich abgesättigt; dementsprechend wird auch das Ausmaß der Komplexonschäden sukzessive gemildert.

Im supraoptimalen Bereich bringt dagegen der Chelatbildner zuviel Metallionen in den Wirt hinein (Vehikeleffekt) und führt dadurch zu Überschwemmungsschäden. Zu den Komplexonschädigungen treten deshalb im supraoptimalen Bereich auch noch die Schädigungen durch die überschüssigen Metallionen. Diese Überschwemmungsschäden durch Metallionen werden naturgemäß durch steigende Gaben von Tomatensproßasche noch mehr verschlimmert.

Steigende Zusätze von Metallionen zu einem chelatbildenden Welkeerreger können deshalb je nach dem Bereich, in welchem sie verabreicht werden, entgegengesetzte Wirkungen haben.

In der vorliegenden Arbeit möchten wir diese Gedankengänge auf das Lycomarasmin übertragen und den Einfluß steigender Zusätze von Tomatensproßasche auf die Giftigkeit des Lycomarasmins für junge Tomatensprosse besprechen. In späteren Arbeiten werden wir zum Komplexon III und zum Lycomarasmin je steigende Mengen bestimmter Schwermetallionen fügen, um zu untersuchen, welche Metallionen bei diesen zwei Verbindungen für die Verschiebung ihrer Toxizität verantwortlich sind.

1. KAPITEL

Der Einfluß steigender Zusätze von Tomatensproßasche I auf die Welkewirkung des Lycomarasmins

In unserer ersten Mitteilung haben wir in Tabelle 3, Seite 358, die schädigende Wirkung steigender Mengen einer bestimmten Tomatensproßasche (wir wollen sie hier als Tomatensproßasche I bezeichnen) auf junge Tomaten-

sprosse dargestellt. Es ergab sich, daß diese Tomatensproßasche schon für sich allein in hohen Gaben die jungen Tomatensprosse zu schädigen vermag: die Tomatenstengel beginnen beim Übergang von der Dosis 2450 zu der Dosis 3750 mg je kg Frischgewicht starke Schädigungen zu zeigen, und die Blätter erfahren schon bei den Aschengaben von 1360 bis 2450 mg je kg Frischgewicht leichte und bei noch höheren Aschengaben unvermittelt schwere Nekrosen.

Ferner haben wir in Tabelle 4 und 5 und in Abb. 6 der genannten Arbeit den Einfluß steigender Zusätze dieser Tomatensproßasche auf den Welkeeffekt des Komplexons III verfolgt und festgestellt, daß die Giftigkeit des Komplexons III mit steigenden Zusätzen dieser Tomatensproßasche I die eingangs geschilderte Minimumkurve durchläuft.

Mit dieser selben Tomatensproßasche I führten wir auch mehrere Versuche durch, bei welchen steigende Aschenmengen einer bestimmten Lycomarasminlösung zugesetzt wurden. Sie verliefen alle gleichsinnig, so daß wir nur einen einzigen Versuch besprechen.

1. Versuchsreihe

Versuchsfrage: Wie verändert sich die welkeauslösende Wirkung des Lycomarasmins bei jungen Tomatensprossen, wenn der Toxinlösung steigende Mengen der Tomatensproßasche I zugesetzt werden?

Sämtliche Tomatensprosse (stets 20 je Stufe) erhielten je kg Frischgewicht 150 mg Lycomarasmin in der Konzentration von $2{,}5 \cdot 10^{-3}$ molar verabreicht. Zwei Stunden vor Versuchsbeginn wurden der Lösung steigende Mengen der Tomatensproßasche I zugesetzt. Der nichtgelöste Rückstand wurde bei Versuchsbeginn abfiltriert, gewaschen und zurückgewogen, und das pH der Lösung wurde wieder auf 6,5 zurückgebracht; unsere Spalte „Aschenzusatz" gibt also nur den wirklich gelösten Aschenanteil wieder. Die Fehlerrechnung wurde stets nach Linder (1951) durchgeführt.

Tabelle 1

Die Wirkung steigender Zusätze der Tomatensproß-Asche I auf den Welke-Effekt von Lycomarasmin bei jungen Tomatensprossen. Sämtliche Sprosse erhielten als Grunddosis 150 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht; der Lycomarasminlösung wurden, je nach Stufe, steigende Mengen der Tomatensproß-Asche I beigefügt

Aschenzusatz mg je kg Lebendgewicht	Welke-Index		
	Stengel	Blätter	
		absolut	bezogen auf die Kontrolle %
0	0	1,45 ± 0,34	100
1 750	0	1,28 ± 0,34	88
3 150	0	0,98 ± 0,43	68
5 720	0	0,33 ± 0,38	23
10 720	0,47	1,27 ± 0,40	88

Die Stengel der Tomatensprosse zeigen in Tabelle 1 bis und mit dem Aschenzusatz von 5720 mg je kg Lebendgewicht keine Schädigungen, weisen dagegen bei dem rund doppelt so hohen Aschenzusatz von 10 720 mg je kg Lebendgewicht leichte Nekrosen, Gewebezerfall, Einschnürungen usw. auf. Es handelt sich dabei offenbar um reine Salzwirkungen, da ja die Tomatensproßasche auch für sich allein, wie oben ausgeführt, in hohen Dosen wesentliche Stengelschädigungen auszulösen vermag.

Die mittleren Schädigungsindizes der Blätter sinken in Tabelle 1 von durchschnittlich 1,45 bei den Kontrollen bis auf 0,33 beim Aschenzusatz von 5720 mg je kg Lebendgewicht; dabei sind die wichtigeren Intervalle statistisch gut gesichert; so beträgt der t-Wert für das Intervall $0{,}98 \pm 0{,}43$ bis $0{,}33 \pm 0{,}38$ 4,435, bei einem $P_{0{,}01}$-Wert von 2,947.

Nach Tabelle 3 unserer ersten Mitteilung bewirken 5700 mg der Tomatensproßasche I je kg Lebendgewicht bei den Blättern junger Tomatenpflanzen eine durchschnittliche Schädigung von rund 1,8. Ferner lösen die als Grunddosis verabreichten 150 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht für sich allein (Kontrollen!) eine durchschnittliche Schädigung von 1,45 aus. Würden die beiden Substanzen unabhängig voneinander auf die Tomatensprosse einwirken, so müßten sich ihre Schädigungseffekte bis zu einem gewissen Grade summieren; statt dessen inaktivieren sich die beiden Partner in steigendem Maße: die welkeauslösende Wirkung von Lycomarasmin + Tomatensproßasche I ist bei optimaler Dosierung erheblich kleiner als die Schadwirkung derselben Menge Lycomarasmin für sich allein oder als die Schadwirkung derselben Menge Tomatensproßasche I für sich allein; die beiden Komponenten des Chelates desaktivieren sich somit gegenseitig.

Die zusätzlich mit dem Lycomarasmin in die Tomatensprosse eingeführten 5720 mg Tomatensproßasche je kg Lebendgewicht entsprechen rund einem Viertel der von Natur aus in den betreffenden Tomatensprossen enthaltenen Aschenmenge; sie bewirken, daß die welkeauslösende Wirkung des Lycomarasmins sozusagen verschwindet; denn eine durchschnittliche Schädigung von 0,33 ist praktisch gesprochen irrelevant.

Wird der Aschenzusatz über diese Dosis von 5720 mg je kg Lebendgewicht hinaus gesteigert, so nimmt bei den jungen Tomatensprossen die Intensität der Schädigungen wieder zu, und die Schädigungen erfahren auch qualitativ gewisse Verschiebungen.

Die qualitativen Verschiebungen des Krankheitsbildes bestehen vor allem im Auftreten von Schädigungen am Stengel und an den Sproßspitzen, die beide unter Rillenbildung kollabieren (ähnlich Abb. 3). Ferner beginnen am Stengel die typischen Überschwemmungsschäden, die schon in

unserer ersten Arbeit geschildert wurden, aufzutreten. Alle diese Schädigungen fehlen dem reinen Lycomarasmin.

In quantitativer Hinsicht steigt in diesem Intervall (von 5720 auf 10 720 mg Tomatensproßasche I je kg Lebendgewicht) die Intensität der an den Blättern ausgelösten Schädigungen von durchschnittlich 0,33 auf 1,27. Wird also der Zusatz von Tomatensproßasche I zum Lycomarasmin von 3150 auf 5720 mg je kg Lebendgewicht erhöht, so sinkt der Schädigungsindex der Blätter von 0,98 auf 0,33, also auf rund ein Drittel; und wird der Zusatz von Tomatensproßasche I zum Lycomarasmin noch weiter erhöht, nämlich von 5720 auf 10 720 mg je kg Lebendgewicht, so steigt nunmehr der Schädigungsindex der Blätter von 0,33 auf 1,27, also auf rund den vierfachen Betrag.

Der Nullpunkt (Schädigungsintensität 100 %, also gleich hoch wie die Kontrolle) wird beim Aschenzusatz von 10 720 mg je kg Lebendgewicht noch nicht erreicht. 150 mg Lycomarasmin + 10 720 mg Tomatensproßasche I (beide je kg Lebendgewicht) sind somit in quantitativer Beziehung für junge Tomatensprosse weniger giftig als 150 mg Lycomarasmin für sich allein.

Die welkeauslösende Wirkung des Lycomarasmins bei jungen Tomatensprossen durchläuft somit, wie die welkeauslösende Wirkung des Komplexons III, bei steigenden Zusätzen von Tomatensproßasche I ein Minimum und ändert hernach die Wirkungsrichtung: im suboptimalen Bereich wird die welkeauslösende Wirkung des Lycomarasmins durch steigende Zusätze von Tomatensproßasche I verringert, im supraoptimalen Bereich dagegen gesteigert, wobei im Krankheitsbild auch gewisse qualitative Verschiebungen auftreten.

Wir dürfen deshalb vermuten, daß der Modellsubstanz Komplexon III und dem Lycomarasmin eine Komponente der pathogenen Wirkung, nämlich die Fähigkeit zur Chelatbildung im Innern des Wirtes, in ähnlicher Weise zukommt; denn bei beiden Stoffen führen steigende Zusätze von Toma-

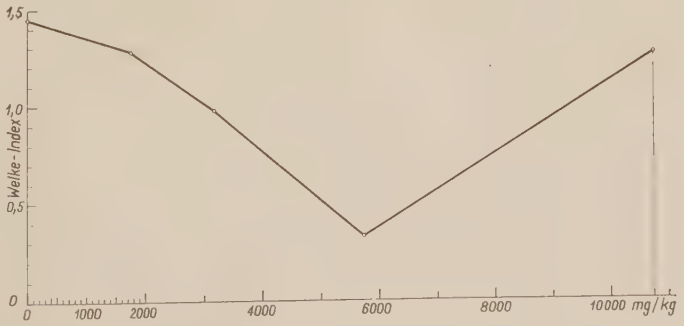


Abb. 1. Die Wirkung steigender Zusätze von Tomatensproßasche I auf den Welke-Effekt des Lycomarasmins bei jungen Tomatensprossen. Sämtliche Sprosse erhielten eine Grunddosis von 150 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht. Der Lycomarasminlösung wurden, je nach Stufe, die in der Abszisse genannten Mengen Tomatensproßasche I beigefügt. Ordinate: Welke-Effekt

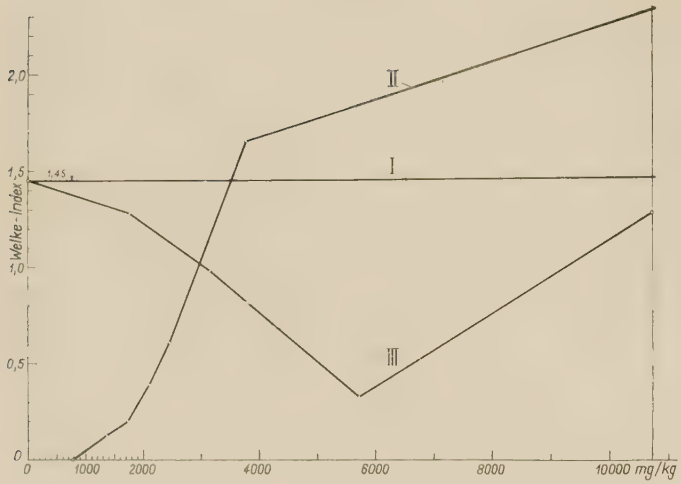


Abb. 2. Der Einfluß steigender Zusätze von Tomatensproßasche I auf die Toxizität des Lycomarasmins für die Blätter junger Tomatensprosse. Kurve I: Schädigungsniveau der als Grunddosis verabreichten 150 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht. Kurve II: Der schädigende Effekt steigender Mengen von Tomatensproßasche I für sich allein auf die Blätter junger Tomatensprosse (nach GÄUMANN und NAEF-ROTH, 1954, Tabelle 3). Kurve III: Der schädigende Effekt des Lycomarasmin-Tomatensproßasche-I-Gemisches, wenn den 150 mg Lycomarasmin steigende Mengen Tomatensproßasche I beigefügt werden (Tabelle 1 der vorliegenden Arbeit). Abszisse: Verabreichte Mengen Tomatensproßasche I in mg je kg Lebendgewicht. Ordinate: Welke-Effekt

tensproßasche I im suboptimalen Bereich zu einer steten Abnahme der Mangelschäden (weil die Giftigkeit der Chelatbildner für junge Tomatensprosse in dem Maße abnimmt, wie ihr Chelierungsvermögen durch die mit der Tomatensproßasche in immer größeren Mengen verabreichten Metallionen abgesättigt wird); bei beiden Stoffen führen die steigenden Zusätze von Tomatensproßasche I in einem bestimmten Bereich zu einem Minimum der Schadwirkung, weil sich dort die beiden Partner gegenseitig desaktivieren; und bei beiden Stoffen führt eine noch weitergehende Steigerung der Zusätze von Tomatensproßasche I in zunehmendem Maße zu Überschwemmungsschäden, weil der Chelatbildner infolge des Vehikeleffektes mit weiter steigenden Aschengaben immer größere pathologisch wirkende Mengen von Metallionen in den Wirt hineinträgt.

Das grundsätzliche Verhalten von Komplexon III und von Lycomarasmin bei steigenden Zusätzen von Tomatensproßasche I ist somit identisch. Ungefähr gleich ist auch das Ausmaß der Depression, welche die Schadwirkung bei der optimalen Mischung von Chelatbildner und Tomatensproßasche I erfährt; beim Komplexon III beträgt nämlich das Schädigungsminimum 35 %, bezogen auf die Kontrolle (Tabelle 4 unserer ersten Arbeit), beim Lycomarasmin 23 %, bezogen auf die Kontrolle (Tabelle 1 der vorliegenden Arbeit).

Die absolute Menge von Tomatensproßasche I, die den beiden Komplexbildnern beigefügt werden muß, um dieses Maximum der gegenseitigen Desaktivierung und damit das Minimum der Schadwirkung für

junge Tomatensprosse zu erreichen, läßt sich leider in den beiden Versuchsreihen nicht vergleichen.

In Tabelle 4, S. 359, unserer ersten Arbeit (und auch in den übrigen Versuchen der vorliegenden Serie) wurde die als Grundlage dienende Komplexon-III-Dosis verhältnismäßig hoch gewählt (Welkeindex der Kontrollen 2,67); denn Komplexon III steht in beliebiger Menge zur Verfügung, und kräftige Schädigungen lassen sich leichter bonitieren als schwache.

Beim Lycomarasmin mußten wir dagegen mit dem vorhandenen Material möglichst haushälterisch umgehen. Die Grunddosis Lycomarasmin wurde deshalb nur gerade so hoch bemessen, daß sich zuverlässig mit ihr arbeiten ließ (Nullwert der Kontrollen in Tabelle 1 der vorliegenden Arbeit 1,45, also nur halb so hoch wie beim Komplexon III). Gewiß wäre es möglich, die beiden Versuchsreihen auf Grund der Dosis-Effekt-Kurven (GÄUMANN und NAEF-ROTH, 1955) auf einen gemeinsamen Nenner zu bringen; wir verzichten jedoch auf diese Umrechnungen, um nicht in eine Pseudomathematik zu verfallen.

2. KAPITEL

Der Einfluß steigender Zusätze der Tomatensproßaschen II und III auf die Welkewirkung des Komplexons III und des Lycomarasmins

Als die Versuche des 1. Kapitels im Sommer 1953 abgeschlossen waren und in mehrfacher Wiederholung stets zu demselben soeben geschilderten Ergebnis geführt hatten, brauchten wir unseren Aschenvorrat auf. Erst später wurde klar, daß uns der Zufall in der Tomatensproßasche I gerade das „schönste" Beispiel einer Tomatensproßasche in die Hände gespielt hatte und daß nicht jede Tomatensproßasche sich mit dem Komplexon III und dem Lycomarasmin in derselben lehrbuchhaften Weise verbindet. Das Zusammenspiel von Tomatensproßasche und Komplexbildner kann vielmehr je nach der chemischen Zusammensetzung der betreffenden Asche abweichende Ergebnisse liefern. Wir möchten im vorliegenden Kapitel unsere Erfahrungen mit zwei anderen Tomatensproßaschen kurz schildern.

Die Tomatensproßasche II war im Winter 1953/54 aus jungen, im Gewächshaus herangezogenen Tomatenpflanzen gewonnen worden. 2000 junge Tomatensprosse mit einem Frischgewicht von 5400 g und einem Trockengewicht von 455 g lieferten nach der früher beschriebenen Veraschung eine Aschenmenge von 135 g. Der Aschengehalt, bezogen auf das Trockengewicht, beträgt somit 29,7 %. Der einzelne Sproß lieferte eine Aschenmenge von 67,5 mg; und da die frischen Sprosse durchschnittlich 2,7 g wogen, so entsprechen diese 67,5 mg einem Aschengehalt von 25,0 g je kg Frischgewicht.

Die Tomatensproßasche III wurde im Sommer 1954 aus jungen Gewächshaus-Tomatenpflanzen gewonnen. 760 junge Tomatensprosse mit 1,48 kg Frischgewicht und 98 g Trockengewicht lieferten nach der früher geschilderten Veraschung 25,805 g Tomatensproßasche III. Der Aschengehalt,

Tabelle 2

Der schädigende Einfluß von Tomatensproß-Asche II auf junge Tomatensprosse

Verabreichte Aschenmenge mg je kg Lebendgewicht	Welke-Index	
	Stengel	Blätter
240	0	0
1 060	0	0
2 000	0	0,45
3 200	0	0,60
4 200	1,45*	0,85
4 550	0,9	1,13
5 200	1,2	1,40
5 900	2,1	1,73
7 100	3,0	1,98

* Einzelne sehr starke Stengelwirkungen verschieben das Mittel.

bezogen auf das Trockengewicht, beträgt somit rund 26 %. Der einzelne Tomatensproß lieferte eine Aschenmenge von 33,9 mg; und da die frischen Sprosse durchschnittlich 1,95 g wogen, so entsprechen diese 33,9 mg einem Aschengehalt von 17,4 g je kg Frischgewicht.

Tabelle 3

Der schädigende Einfluß von Tomatensproß-Asche III auf junge Tomatensprosse

Verabreichte Aschenmenge mg je kg Frischgewicht	Welke-Index	
	Stengel	Blätter
175	0	0
1 050	0	0,33
2 100	0	0,73
4 550	1,7	1,63
6 200	3,0	2,38
8 700	3,9	2,63

Die beiden Aschenproben wirken für sich allein auf junge Tomatensprosse verschieden giftig (Tabelle 2 und 3). Die Asche III schädigt die Blätter ungefähr gleich stark wie die Asche I; denn der Welkeindex für die Aschengabe von 4000 mg je kg Lebendgewicht beträgt für die Asche I (Tabelle 3 unserer ersten Arbeit) etwa 1,7, für die Asche III (Tabelle 3 der vorliegenden Arbeit) etwa 1,5. Die Asche II wirkt dagegen nur etwa halb so stark (Index 0,8; Tabelle 2 der vorliegenden Arbeit).

Um abzuklären, ob eine unmittelbare Beziehung zwischen der chemischen Zusammensetzung der Aschenproben II und III und ihrer unterschiedlichen Toxizität für junge Tomatensprosse besteht, wurden beide Aschen im Laboratorium für anorganische Chemie unserer Hochschule (Abteilungsleiter Prof. Dr. O. GÜBELI) durch die Herren Dr. H. BODMER und dipl. ing. chem. G. PARISSAKIS analysiert. Die Alkalien und das Calcium wurden flammenspektro-

graphisch, das Magnesium nach Abtrennen des Calciums kolorimetrisch mit Titangelb, das Eisen maßanalytisch und kolorimetrisch (Thioglykolsäure) und die Schwermetallspuren nach Anreicherung polarographisch bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Tabelle 4

Die chemische Zusammensetzung der Tomatensproß-Aschen II und III

Metalle	Tomatensproß-Asche II		Tomatensproß-Asche III	
	Analysenergebnisse, bezogen auf die Asche %	Metallionen, bezogen auf das Frischgewicht mg je kg	Analysenergebnisse, bezogen auf die Asche %	Metallionen, bezogen auf das Frischgewicht mg je kg
Na_2SO_4	2,40	192,5	2,01	113,4
K_2SO_4	50,41	5 645,0	43,40	2 694,0
$CaSO_4$	14,33	1 052,5	12,40	735,2
$MgSO_4$	6,42	320,0	19,70	787,5
$FeSO_4$	29,90	2 752,5	20,71	1 331,4
Cd^{++}	—	—	—	—
Mn^{++}	—	—	—	—
Co^{++}	Spur unter 0,001	unter 0,25	Spur unter 0,001	unter 0,17
Zn^{++}	Spur unter 0,007	unter 1,75	Spur 0,007	1,22
Ni^{++++}	0,001	0,25	—	—
Cu^{++}	0,075	18,75	0,025	4,36

Tabelle 5

Die Wirkung steigender Zusätze von Tomatensproß-Asche II auf den Welke-Effekt von Komplexon III bei jungen Tomatensprossen. Sämtliche Sprosse erhielten als Grunddosis 1860 mg Komplexon III je kg Lebendgewicht in der Konzentration von $2 \cdot 10^{-2}$ molar verabreicht; dieser Komplexonlösung wurden, je nach Stufe, steigende Mengen Tomatensproß-Asche II beigefügt. pH 4,0. 15 Versuchspflanzen je Stufe

Aschenzusatz mg je kg Lebendgewicht	Welke-Index		
	Stengel	Blätter	
		absolut	bezogen auf die Kontrolle %
0	0	2,03 ± 0,40	100
133	0	2,10 ± 0,44	103
790	0	2,12 ± 0,59	104
1 220	0	1,67 ± 0,30	82
1 560	0,3	1,65 ± 0,28	81
1 880	0,2	1,55 ± 0,34	76
2 230	0,4	1,87 ± 0,29	92
2 670	0,6	1,72 ± 0,23	85
2 950	1,0	1,70 ± 0,21	84
3 350	1,5	1,98 ± 0,38	97
3 650	1,8	1,98 ± 0,37	97
5 200	3,5	2,45 ± 0,48	121

Tabelle 6

Die Wirkung steigender Zusätze von Tomatensproß-Asche II auf den Welke-Effekt von Lycomarasmin bei jungen Tomatensprossen. Sämtliche Sprosse erhielten als Grunddosis 225 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht in der Konzentration von $2{,}5 \cdot 10^{-3}$ molar; der Lycomarasminlösung wurden, je nach Stufe, steigende Mengen Tomatensproß-Asche II beigefügt. pH 6,5. 15 Versuchspflanzen je Stufe

Aschenzusatz mg je kg Lebendgewicht	Welke-Index		
	Stengel	Blätter	
		absolut	bezogen auf die Kontrolle %
0	0	1,63 ± 0,20	100
2 470	0	1,62 ± 0,35	99
2 730	0	1,50 ± 0,30	92
2 950	0	1,43 ± 0,34	88
3 230	0	1,63 ± 0,29	100
3 550	0	1,73 ± 0,40	106
3 940	0,90	1,65 ± 0,32	101
4 500	0,81	1,61 ± 0,27	99
4 680	1,13	1,93 ± 0,30	118
4 800	0,73	2,09 ± 0,40	128
5 000	1,00	2,10 ± 0,44	129
5 400	1,10	1,97 ± 0,32	121
5 800	2,17	1,93 ± 0,33	118
7 000	1,83	2,23 ± 0,28	137
7 900	1,93	2,18 ± 0,50	134
11 000	2,60	2,48 ± 0,68	152

Tabelle 7

Die Wirkung steigender Zusätze von Tomatensproß-Asche III auf den Welke-Effekt des Komplexons III bei jungen Tomatensprossen. Sämtliche Sprosse erhielten als Grunddosis 1860 mg Komplexon III je kg Lebendgewicht in der Konzentration von $2 \cdot 10^{-2}$ molar verabreicht; der Komplexonlösung wurden, je nach Stufe, steigende Mengen Tomatensproß-Asche III beigefügt. pH 4,0. 15 Versuchspflanzen je Stufe

Aschenzusatz mg je kg Lebendgewicht	Welke-Index		
	Stengel	Blätter	
		absolut	bezogen auf die Kontrolle %
0	0,17	1,82 ± 0,23	100
100	0	1,95 ± 0,22	107
175	0	1,95 ± 0,27	107
500	0	1,58 ± 0,36	87
960	0	1,60 ± 0,18	88
1 420	0	1,20 ± 0,33	66
1 750	0,30	1,52 ± 0,19	83
2 000	0	1,44 ± 0,27	79
2 360	0,50	1,63 ± 0,38	89
2 670	1,23	1,52 ± 0,18	83
3 070	1,64	1,59 ± 0.09	87
3 500	1,70	1,80 ± 0,30	99
4 800	3,45	2,05 ± 0,21	113

Die höhere Toxizität der Asche III läßt sich auf Grund der Tabelle 4 nicht ohne weiteres erklären. Deutlich verschieden sind einerseits die Magnesium- und Eisengehalte: die Asche III enthält rund dreimal mehr Magnesium als die Asche II, dagegen nur zwei Drittel ihrer Eisenmenge. Erheblich verschieden ist ferner das Verhältnis Calcium zu Magnesium: bei der Asche II verhalten sich diese beiden Metalle wie 14 : 6, bei der Asche III wie 12 : 20. Doch vermögen wir nicht zu beurteilen, wieweit diese unterschiedlichen Relationen die Toxizität der Tomatensproßaschen unmittelbar verschieben.

Das Zusammenwirken steigender Mengen der Asche II und III mit Komplexon III bzw. mit Lycomarasmin wurde in ähnlicher Weise wie für die Asche I bestimmt. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 5 bis 8 wiedergegeben.

Tabelle 8

Die Wirkung steigender Zusätze von Tomatensproß-Asche III auf den Welke-Effekt des Lycomarasmins bei jungen Tomatensprossen. Sämtliche Sprosse erhielten als Grunddosis 225 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht in der Konzentration von $2{,}5 \cdot 10^{-3}$ molar verabreicht; der Lycomarasminlösung wurden, je nach Stufe, steigende Mengen Tomatensproß-Asche III beigefügt. pH 6,5. 20 Versuchspflanzen je Stufe

Aschenzusatz mg je kg Lebendgewicht	Welke-Index		
	Stengel	Blätter	
		absolut	bezogen auf die Kontrolle %
0	0	1,43 ± 0,24	100
820	0	1,41 ± 0,25	99
1 280	0	1,41 ± 0,16	99
1 680	0	1,45 ± 0,19	101
2 100	0	1,50 ± 0,28	105
2 600	0	1,23 ± 0,23	86
2 900	0	1,19 ± 0,19	83
3 100	0	1,30 ± 0,23	91
3 700	0,3	1,34 ± 0,25	94
4 700	0,5	1,60 ± 0,31	112
6 100	2,0	1,60 ± 0,42	112
10 000	3,5	2,07 ± 0,59	145

In qualitativer Beziehung wirken beide Aschenproben gleich: bei niederen Aschenzusätzen werden die eingebrachten Metallionen durch die Chelatbildner maskiert und treten als solche nicht in Erscheinung; bei höheren Aschenzusätzen erscheinen dagegen an den Stengeln und Blättern die typischen Symptome der Aschenvergiftung, wobei der Stengel und die Sproß-Spitze unter Rillenbildung kollabieren (Abb. 3).

In quantitativer Beziehung erweist sich die Asche II, die ja schon für sich allein weniger toxisch war als die Asche III, auch in ihrem Zusammenwirken mit den beiden Chelatbildnern als weniger aktiv. Mit dem Komplexon III (also mit einem starken Chelatbildner) vermag sie noch eine typische Minimumkurve der Blattschädigungen auszulösen (Tabelle 5); beim Lycomarasmin, als einem wahrscheinlich schwächeren Chelatbildner, ist dagegen dieser Minimumeffekt statistisch nicht mehr sichergestellt (Tabelle 6).

Die Asche III vermag dagegen sowohl mit dem Komplexon III (Tabelle 7) als mit dem Lycomarasmin (Tabelle 8) statistisch gesicherte Minimumkurven auszulösen, wobei sich wiederum die beiden Partner gegenseitig desaktivieren; so bewirken 225 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht nach Tabelle 8 (Kontrolle) bei den betreffenden Tomatensprossen eine durchschnittliche Schädigung der Blätter von 1,43. 2900 mg Tomatensproßasche III je kg Lebendgewicht verursachen ihrerseits nach Tabelle 3 eine durchschnittliche Schädigung der Blätter von rund 1,0. Die gesamte Schadwirkung müßte somit, wenn die beiden Komponenten einzeln auf die Tomatensprosse einwirken würden, rund 2,4 betragen; stattdessen stellt sie sich nur auf die Hälfte, nämlich auf rund 1,2; sie ist demnach kleiner als für die 225 mg Lycomarasmin für sich allein.

Abb. 3. Die Welkesymptome des Lycomarasmin-Aschen-Komplexes bei jungen Tomatensprossen. Der abgebildete Sproß erhielt je kg Lebendgewicht 225 mg Lycomarasmin und 9950 mg Tomatensproßasche II verabreicht. Der Blattrand, die Blattspitzen und die Interkostalfelder zeigen typische Aschenschäden; ferner sind der Stengel und die Sproß-Spitze als Folge der Aschenvergiftung kollabiert

Gemessen an der Tomatensproßasche I liegt das Schädigungsminimum bei den Aschen II und III weniger tief; bei der Asche I geht die Depression der Schadwirkung des Komplexons III bis auf 35 % hinunter,

beim Lycomarasmin bis auf 23 %, bei der Asche II bis auf 76 bzw. 88 %, und bei der Asche III bis auf 66 bzw. 83 %.

Gemessen an der Asche II erweist sich also die Asche III auch in ihrem Zusammenwirken mit den beiden Chelatbildnern als etwas aktiver. Doch geben die Aschenanalysen der Tabelle 4 keinen Aufschluß über die mutmaßlichen Ursachen dieser unterschiedlichen Aktivität. Die Ursache liegt wahrscheinlich irgendwie im gegenseitigen Verhältnis antagonistischer oder sich konkurrenzierender Ionen, ohne daß es uns zur Zeit möglich wäre, hierbei über den Rahmen bloßer Spekulationen hinauszukommen.

Sicher ist also nur, daß steigende Zusätze von Tomatensproßasche im idealen Falle die Toxizität von Komplexon III und von Lycomarasmin für junge Tomatensprosse im Sinne einer Minimumkurve verschieben; unbekannt ist jedoch, welche Metallionen hierbei den Ausschlag geben. Vielleicht kommen wir dieser Frage näher, wenn wir den beiden Komplexbildnern statt steigender Mengen Tomatensproßasche steigende Mengen bestimmter Metallionen beifügen. Hierüber werden wir in späteren Mitteilungen berichten.

Zusammenfassung

1. Zu bestimmten Mengen von Lycomarasmin bzw. von Komplexon III wurden steigende Mengen von Asche aus jungen Tomatensprossen gefügt. Die Giftigkeit dieser Gemische für junge Tomatensprosse durchläuft bei beiden Stoffen im idealen Falle eine Minimumkurve: anfänglich nimmt sie mit steigenden Aschenzusätzen ab; dann durchläuft sie ein Minimum, das im extremen Falle (Lycomarasmin + Tomatensproßasche I) 23 % des Kontrollwertes (Lycomarasmin für sich allein) betragen kann; hierauf ändert sie ihren Richtungssinn und steigt mit weiter zunehmenden Aschenzusätzen an, wobei sich die Schädigungsbilder auch qualitativ verschieben. Aus diesem identischen Verhalten der beiden Stoffe wird geschlossen, daß Lycomarasmin ein echter, wirkungsvoller Chelatbildner ist.

2. In günstigen Fällen, so bei der Mischung von Lycomarasmin mit Tomatensproßasche I, ist die welke-auslösende Wirkung des Gemisches beim optimalen Mischungsverhältnis der beiden Partner erheblich kleiner als der Giftigkeit des Lycomarasmins für sich allein oder als der Giftigkeit der Asche für sich allein entsprechen würde; sie beträgt nämlich bei gleichen Dosen nur rund ein Viertel des Wertes von Lycomarasmin für sich allein und ein Fünftel des Wertes von Tomatensproßasche I für sich allein. Aus dieser Depression der Schadwirkung wird geschlossen, daß die beiden Partner sich gegenseitig desaktivieren.

3. Die Fähigkeit zur Desaktivierung der zwei zur Diskussion stehenden Chelatbildner ist bei verschiedenen Provenienzen von Tomatensproßasche verschieden; doch konnte aus den Bauschanalysen von zwei derartigen Aschen noch keine plausible Erklärung für diese unterschiedliche Eignung gefunden werden.

Literaturverzeichnis

Deuel, H., 1954: Über Störungen des Spurenelementhaushaltes der Pflanzen durch Welketoxine. Phytopath. Z. **21**, 337—348.

Gäumann, E. und Naef-Roth, St., 1954: Über die chelierende Wirkung einiger Welketoxine I. l. c. **21**, 349—366.

— — und — —, 1955: Die Dosis-Effekt-Beziehungen bei Lycomarasmin und Komplexon III. l. c. **23**, 141—146.

Linder, A., 1951: Statistische Methoden für Naturwissenschafter, Mediziner und Ingenieure. 2. Aufl. Birkhäuser, Basel, 238 S.

Schwarzenbach, G., 1952: Der Chelateffekt. Helv. chim. acta **35**, 2344—2359.

— — und Ackermann, H., 1947: Komplexone V. Die Aethylendiamin-tetraessigsäure. l. c. **30**, 1798—1804.

Waggoner, P. E. and Dimond, A. E., 1953: Role of chelation in causing and inhibiting the toxicity of Lycomarasmin. Phytopath. **43**, 281—284.

Istituto di Patologia vegetale Bologna, Italia
Direttore: Prof. G. Goidànich

Una nuova forma di giallume della barbabietola

Antonio Canova

10 Figure

Su barbabietole coltivate in Romagna affette da giallume abbiamo rilevato certe manifestazioni patologiche non facenti parte del normale quadro sintomatologico di questa virosi.

Per certi caratteri tali manifestazioni potevano essere avvicinate a quelle del virus del „giallume delle nervature" (5, 12, 13) od ad una sovrapposizione di questo in piante già affette dal „giallume"; ma altri caratteri — come vedremo meglio in seguito — fecero ritenere questa ipotesi poco verosimile.

Comunque che si trattasse veramente di una alterazione provocata da un agente infettivo di natura virotica, apparve ben presto confermato dalla riproduzione della malattia, su bietole perfettamente sane, con l'ausilio di vettori animali.

Abbiamo allora cercato di individuare e caratterizzare questo particolare agente infettivo, servendoci della tecnica che oramai si è dimostrata idonea a tale tipo di ricerche; in particolare si è voluto studiare il grado di infeziosità ed i modi con cui può avvenire la sua trasmissione. Assieme abbiamo condotto un accurato esame delle alterazioni macro- e microscopiche indotte dall'infezione sia su piante di barbabietola da zucchero, che su altre specie normalmente recettive ai virus che colpiscono la bietola, finora conosciuti.

Sul'esito di questo complesso di indagini riferiamo nelle pagine che seguono.

Fig. 1. Giovane foglia di barbabietola con le manifestazioni dell'infezione del „giallume di Romagna". Le nervature appaiono traslucide e particolarmente visibili osservando la foglia per trasparenza, come appunto è stata fatta la presente fotografia

Sintomi macroscopici

Questi possono essere divisi in primari e secondari.

I sintomi primari sono quelli che compaiono, su barbabietole da zucchero, dopo 10—13 giorni dall'infezione operata a mezzo di afidi*), ed interessano alcuni elementi centrali della rosetta fogliare.

Fig. 2. Foglia di bietola con i sintomi primari del „giallume di Romagna" ben evidenti. Si noti la decolorazione del clorenchima in corrispondenza del decorso dei fasci fibro-vascolari

Le nervature appaiono dapprima piuttosto traslucide, sí che risulta particolarmente evidente il loro decorso nello spessore della foglia, quando questa viene osservata per trasparenza contro una sorgente luminosa (v. fig. 1).

Successivamente si nota una accentuata decolorazione che interessa le cellule clorenchimatiche, adiacenti ai vasi stessi, per cui la foglia appare completamente interessata da una reticolatura giallastra (fig. 2), analoga a quella che si osserva nelle infezioni di virus del „giallume delle nervature" (5, 12).

I segni descritti si rendono apparenti dapprima nella porzione apicale della foglia e in breve tempo si estendono irregolarmente in senso basipeto a tutta la restante parte dell'organo. I nuovi elementi vascolari che si formano in seguito all'accrescimento della lamina vengono interessati dalla medesima alterazione.

Le foglie cosí ammalate non raggiungono quasi mai le dimensioni normali. A volte appaiono poi di forma irregolare, assimmetrica, in conseguenza del fatto che le alterazioni alle nervature sono irregolarmente distribuite sulla lamina fogliare (v. fig. 3).

*) In questi tentativi di trasmissione del virus ci si è sempre serviti del *Myzus persicae* Sulz., che ha dimostrato di essere un vettore molto attivo dell'infezione; assai più, comunque dell' *Aphis fabae* Koch., l'altra specie comune sulla barbabietola. Ciò è confermato da diverse ricerche condotte sia su piante isolate in serra (19) che in pieno campo (4, 20).

Infine osservando le foglie dalla pagina inferiore si nota chiaramente un infossamento in corrispondenza della decolorazione nervale. Ciò appare particolarmente accentuato lungo il decorso degli elementi vascolari più piccoli e nelle porzioni terminali di quelli principali.

I s i n t o m i s e c o n d a r i si manifestano dopo 17—20 giorni dall'inoculo del virus, sotto forma di una decolorazione del parenchima interfasciale delle foglie più vecchie (v. fig. 4), dapprima tenue e poi sempre più intensa, che si trasforma infine in un giallo aranciato con sfumature tendenti al rossiccio. Questa alterazione cromatica per un certo periodo di tempo risparmia, però, i tessuti lungo le nervature, che conservano così la tinta verde normale.

I sintomi primari (ingiallimento delle nervature) si manifestano generalmente, solo sulle prime due foglioline più giovani che si stanno differenziando nel periodo in cui la pianta contrae l'infezione (in qualche caso anche una terza fogliolina può presentare questi sintomi, però in forma attenuata).

Fig. 3. Foglia come alla figura precedente. L'alterazione nervale non é uniformemente distribuita sulla lamina fogliare e questo porta ad una evidente deformazione di essa

Quelle che si sviluppano successivamente ne sono del tutto risparmiate e pertanto apparentemente normali. Queste modificazioni di aspetto non appaiono neppure sui giovani elementi fogliari delle piante virosate che, dopo aver perduto la vegetazione durante l'inverno, ricominciano a vegetare nella primavera successiva.

Anche i cotiledoni non vanno soggetti alla decolorazione della zona delle nervature. Inoculazioni del virus effettuate su giovani bietoline in germogliazione, hanno dato come primo sintomo un ingiallimento diffuso dei due organi cotiledonari al quale seguiva, a distanza di tempo, quello delle altre foglie man mano raggiungevano il loro completo sviluppo.

Nel complesso si può concludere che la sintomatologia esterna delle bietole affette dall'agente infettivo da noi studiato è del tutto simile a quella provocata dal virus del „giallume", con l'aggiunta di una precoce decolorazione nervale delle prime 2—3 giovani foglioline.

Fig. 4. Foglia di barbabietola colpita dal „giallume di Romagna". Al sintomo primario si è già sovrapposto quello secondario sotto forma di un ingiallimento uniformemente diffuso su tutto il parenchima fogliare

Sintomi microscopici

L'esame microscopico effettuato su sezioni di foglie presentanti questi sintomi precoci della malattia, ha messo in rilievo delle modificazioni strutturali interessanti principalmente gli elementi floematici e quelli del parenchima clorofilliano ad essi adiacenti.

Tali osservazioni furono condotte sia su materiale che da pochi giorni (2—3) presentava l'ingiallimento lungo il decorso dei fasci fibro-vascolari, che su altro in uno stadio più avanzato dell'alterazione, quando erano già ben visibili i sintomi secondari della decolorazione del lembo nelle foglie mature. E tutto ciò in corrispondenza del tratto terminale dei fasci di secondo ordine e degli altri di ordine inferiore, ove più marcati erano i caratteri macroscopici dell'alterazione (1, 9).

In ogni caso risulta evidente un restringimento progressivo della sezione fogliare nella pagina inferiore, in corrispondenza dei vasi, al quale fa riscontro generalmente un incurvamento, più o meno marcato, del lembo superiore (v. fig. 5 c e fig. 6 b).

Nelle sezioni di foglie che da poco tempo mostrano i segni macroscopici primari della virosi, si nota una ipoplasia nella zona fibro-vascolare. Carattere questo particolarmente accentuato negli elementi componenti la porzione floematica del fascio, che interessa inoltre le cellule meristematiche interposte

fra la zona legnosa e quella cribrosa. Quest'ultime (nelle nervature più piccole) sono del tutto assenti, oppure molto ridotte e scarsamente funzionanti (nelle nervature secondarie).

Alla ipoplasia degli elementi cribo-vascolari si accompagna una analoga alterazione delle cellule del parenchima fogliare adiacenti al floema (soprattutto degli elementi del lacunoso e della epidermide inferiore; v. figg. 5 e 6).

Naturalmente anche le cellule dell'endoderma, che circondano il vaso, hanno subito più o meno la stessa modificazione strutturale.

E' da tutto ciò che deriva, come è facile comprendere, quella sorta di infossamento del lembo lungo il decorso delle nervature di ordine inferiore, rilevabile macroscopicamente dalla pagina inferiore (cfr. pag. 163).

I segni di questa alterata struttura appaiono più evidenti quando le osservazioni vengono fatte su materiale che da qualche tempo presenta i sintomi dell'ingiallimento nervale. Il fenomeno dell'ipoplasia quantitativa risulta sensibilmente accentuato. E ciò principalmente nella zona del floema ove a causa dell'alterata funziona-

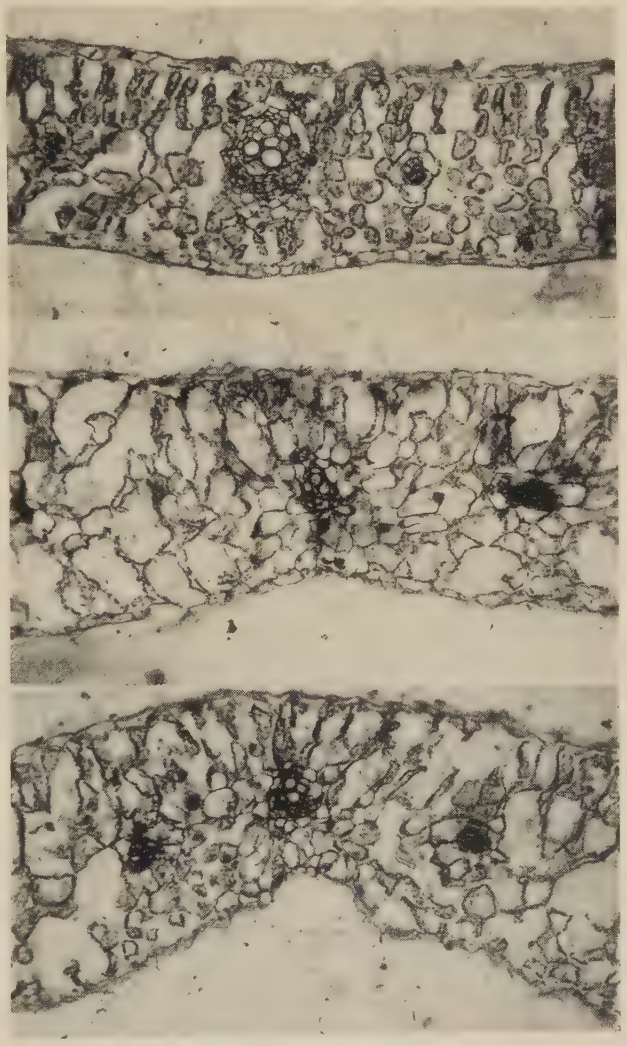


Fig. 5. Microfotografie di sezioni di foglie di barbabietola da zucchero in corrispondenza di uno dei fasci fibro vascolari di ultimo ordine. a) Di foglia sana. b) Di foglia con sintomi iniziali esterni di ingiallimento in prossimità delle nervature. Si noti il carattere ipoplastico principalmente degli elementi componenti la porzione vascolare e la alterazione del corredo cloroplastico delle cellule clorenchimatiche circostanti tali elementi. c) Di una foglia in uno stadio più avanzato dell'infezione. L'ipoplasia quantitativa delle cellule della porzione nervale e di quella del parenchima fogliare circostante appare ancor più marcata

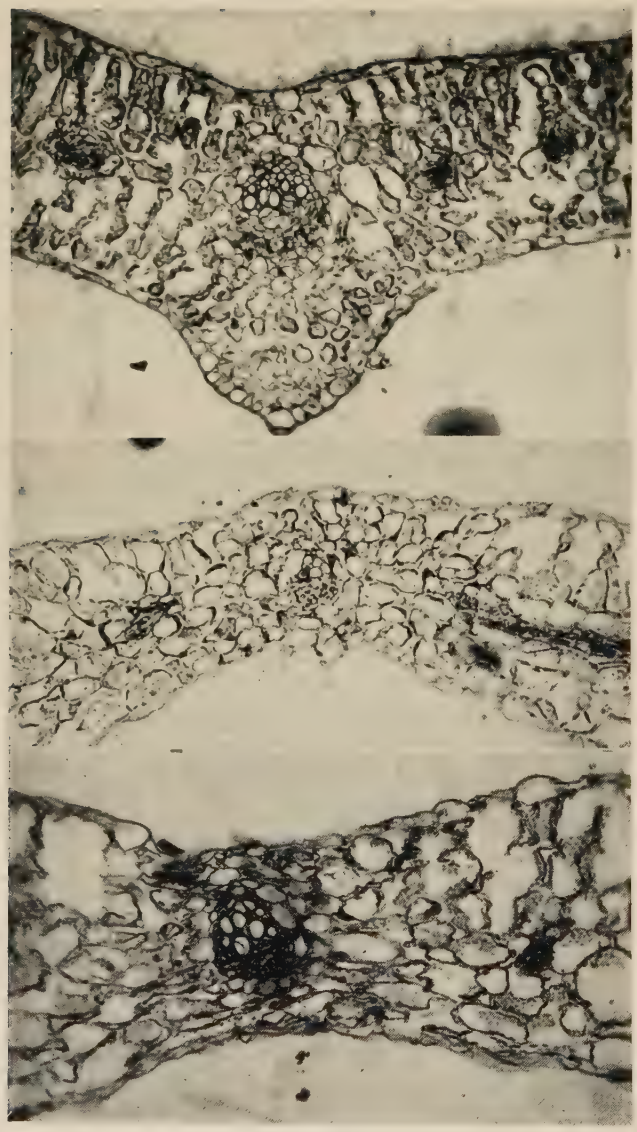


Fig. 6. Microfotografie di sezioni di foglie di barbabietola in corrispondenza del tratto terminale di una nervatura di secondo ordine. a) Di foglia sana. b) Di foglia interessata dal sintomo primario dell'infezione del „giallume di Romagna". Il fenomeno ipoplastico appare particolarmente evidente e ciò segnatamente nella zona degli elementi conduttori data la ridotta funzionalità delle cellule meristematiche interposte fra la porzione legnosa e cribrosa del fascio. c) Come sopra. L'ipoplasia ha interessato in modo uniforme tutti gli elementi cellulari del mesofillo e dell'epidermide fogliare adiacente alla nervatura

lità del tessuto meristematico intervasale non si ha l'apporto di nuovi elementi, se non in forma molto ridotta.

In queste condizioni, in corrispondenza della zona terminale delle nervature di secondo ordine, capita qualche volta di osservare una estensione maggiore dell'alterazione. L' ipoplasia interessa in eguale misura tutti gli elementi del parenchima clorofilliano circostanti il fascio (fig. 6 c).

Nessun accenno di collasso e necrosi è stato osservato a carico degli elementi soggetti al fenomeno ipoplastico.

Nelle cellule del parenchima clorofilliano — e particolarmente in quelle più vicine al floema — sono visibili, inoltre, alterazioni a carico del corredo cloroplastidico.

Internamente alle cellule si riscontra una diminuzione del numero dei cloroplasti (in alcune anche una completa assenza) al posto dei quali compaiono numerose minute granulazioni di un colore

giallo verde, quando le sezioni sono osservate direttamente in acqua. In quelle trattate con safranina e ematossilina, queste granulazioni assumono una tinta rosso-bluastra, analoga a quella dei cloroplasti integri.

Molte affezioni da virus — è noto — inducono varie modificazioni nel corredo cloroplastidico, che vanno da una degenerazione ad una loro mancata differenzazione.

Ambedue i fenomeni è probabile avvengano nelle cellule circostanti i tessuti cribrosi. Appare difficile stabilire però con precisione se accanto alla disorganizzazione si riscontra, dato il marcato carattere ipoplastico delle cellule, una mancata formazione di essi.

Identificazione

Sulla identità di questa virosi sono state da principio fatte diverse ipotesi. Esclusa, per ragioni su cui qui non è opportuno soffermarsi, l'idea che si trattasse di un nuovo tipo di virus, ci siamo maggiormente soffermati — ritenendole più vicine alla realtà — su quelle che portavano a considerare la malattia come provocata da un complesso di virus, oppure da un mutante di quello del giallume.

Per risolvere l'incertezza innanzitutto sono stati fatti numerosi tentativi di separare i componenti dell'ipotetico complesso virotico, che si trasmetteva sempre fedelmente. E ciò seguendo le vie illustrate nei paragrafi successivi riguardanti: α) il metodo di trasmissione (insetti, succo), β) le relazioni con i vettori animali, γ) la possibilità di infettare determinati tipi di piante e non altre o di produrre in queste reazioni differenti.

α) Le inoculazioni meccaniche effettuate con succo di foglia ammalata, previa abrasione dell'epidermide fogliare, su diversi tipi di piante recettive al virus de giallume (vedi più avanti) e di alcune solanacee normalmente non sensibili a questo virus (tabacco, pomodoro), hanno sempre dato esito negativo. Nessun sintomo di infezione è stato osservato.

Risultati positivi, nel primo caso (piante sensibili al giallume), si sono invece avuti quando la trasmissione era tentata con l'ausilio degli afidi del tipo *Myzus persicae*.

β) Smith (15) suggerisce come un possibile sistema per separare i componenti di un complesso di virus, non trasmissibili per succo (come, si è appena ora visto, è il caso della nostra virosi), lo sfruttamento delle diversità eventualmente esistenti nelle relazioni dei singoli virus con i loro vettori animali. Più precisamente la diversità di tempo che occorre, ad esempio, ad un afide per acquisire o trasmettere un virus rispetto ad un altro virus.

Afidi del tipo *Myzus persicae* erano posti su bietole ammalate e da qui passati su altre sane dopo un periodo di suzione effettiva (da quando cioè si poteva osservare la penetrazione del rostro nel tessuto fogliare), variabile dai 5, 15, 30, 60 minuti primi. Il tempo di alimentazione di tali afidi, sulle piante indenni è stato pure diverso: 7, 15, 30 minuti. Ogni tentativo di trasmissione dell'infezione era ripetuto su cinque barbabietole, impiegando cinque afidi per ogni inoculo.

Se invece, si fosse trattato — ad esempio — di un inquinamento verificatosi in piante colpite dal giallume con il virus del giallume delle nervature, oppure del caso contrario, operando in questo modo si sarebbe dovuto riuscire a separare i due virus. Gli studi di WATSON (18, 19), riferiti al virus del giallume e quelli di SYLVESTER (17) al secondo, indicano che nei rapporti che intercorrono fra i due virus e gli insetti vettori esistono differenze abbastanza sensibili. E ciò soprattutto nel periodo necessario ad un afide ad acquisire il virus da una fonte infetta e in quello del periodo di incubazione.

γ) Un ultimo tentativo atto a far luce sull'ipotesi che l'alterazione riscontrata sulle barbabietole della Romagna fosse da attribuire a una miscela di più virus, è stato quello di cercare di trasmettere l'infezione a varie specie di piante (le stesse inoculate per via meccanica) e di prendere in esame le manifestazioni esterne dell'infezione. Ciò nella speranza che qualcuna di tali piante avesse la proprietà di agire come da filtro sull'agente infettivo. operando di conseguenza una separazione delle varie frazioni.

Solo certe piante hanno dimostrato essere recettive alla virosi (quelle che notoriamente sono riconosciute sensibili al virus del giallume) e presentando segni macroscopici simili, tranne alcune particolarità dei sintomi primari, a quelli indotti dall'infezione del giallume (v. pag. 171).

Tutti questi fatti permettono di considerare l'ipotesi dell'associazione di virus como molto poco verosimile.

Resta così da prendere in considerazione l'idea che la malattia in esame sia prodotte da un ceppo di virus del giallume diverso da quello già noto in Italia (5).

L'esistenza di mutanti per tale virus è già nota da parecchio tempo. WATSON (18) per primo accennò alla probabile esistenza di ceppi diversi di giallume che differiscono soprattutto nel grado di virulenza e nella intensità dei sintomi. Tali aspetti sono stati osservati dallo sperimentatore inglese nella trasmissione del virus isolato da materiale infetto di provenienza olandese e di un altro collezionato in Inghilterra. Il mutante più virulento (quello inglese) induceva una decolorazione precoce del parenchima fogliare, in esatta corrispondenza delle nervature, su foglie di media età (dopo 8—10 giorni dall'inoculazione), seguita da altri sintomi sulle foglie mature.

Indicazione più precise sull'esistenza di varianti di questo virus sono quelle riportate da CLINCH e LOUGHNANE (7) che li distinguono in base alle caratteristiche delle alterazioni. Due tipi vengono descritti dai due AA. e indicati con i nomi di: „Mild yellows" e „Etch yellows".

Le infezioni del primo ceppo comportano quella solita decolorazione progressiva del lembo nelle foglie mature, mentre in quelle del secondo — tale sintomo — è preceduto da un ingiallimento lungo il decorso delle nervature nelle giovani foglioline. Questa manifestazione è solo un sintomo primario, compare su alcune foglie giovani e non in altre che si sviluppano successivamente.

Il mutante, con questi segni precoci dell'infezione sulle foglie centrali, appare essere un tipo abbastanza diffuso. Oltre alle segnalazioni ricordate, altre se ne riscontrano in: Svezia (3), Cecoslovacchia (8), Olanda (14) ecc.

In comune al nostro, questi varianti ricordati, hanno dunque quella primaria manifestazione di ingiallimento nervale in alcuni elementi della rosetta fogliare. Altre caratteristiche, però, permettono di distinguerli in modo inconfondibile.

Nel ricordato „Etch yellows" di Clinch e Loughnane, che pure è molto simile nella sintomatologia esterna, esistono diversità però nelle alterazioni microscopiche: al posto della ipoplasia degli elementi componenti la porzione vascolare e di quelli del parenchima clorofilliano adiacenti (cfr. pag. 164), gli studiosi irlandesi accennano ad una ipertrofia e iperplasia delle cellule del mesofillo, vicine al floema, seguite da un loro collasso e necrosi dei tubi cribrosi.

Watson ricorda, invece, per il giallume più virulento da lui studiato un ingiallimento della zona nervale che appare sulle foglie di media età (mai nelle giovanissime, come è nel nostro), seguito da una necrosi delle cellule del mesofillo che compongono questa porzione ingiallita.

Non ci sembra dunque, di potere identificare con alcune di quelle già descritte la forma italiana di giallume che ha la sintomatologia illustrata a pag. 162. La consideriamo, pertanto, una forma nuova che chiameremo il „giallume di Romagna".

Infeziosità

Come abbiamo precedentemente riferito, Watson (18) ha riscontrato una diversa virulenza fra i due ceppi di giallume isolati da barbabietole allevate in Olanda e da altre raccolte in Inghilterra. A favore, vioè, di quest'ultimo ceppo.

Del pari Clinch e Loughnane (7) hanno rilevato una più elevata infeziosità nella forma „Etch yellows" rispetto all'altra „Mild yellows".

Dal canto nostro abbiamo voluto saggiare la possibile esistenza di tale diversità di virulenza fra i due tipi di giallume osservati nei bietolai italiani nel passato anno; quello dell'ingiallimento comune e l'altro caratterizzato dall'oramai noto sintomo primario.

Afidi del tipo *Myzus persicae*, sicuramente immuni da infezioni virotiche, erano deposti su barbabietole affette dall'una o dall'altra forma di questo virus. Lasciati alimentare per periodi di tempo variabili di 1 e 6 ore, erano successivamente trasferiti su piante sane. In ogni bietola da infettare venivano collocati solo cinque afidi mantenendoli in vita per circa 24 ore.

Nel primo caso — un'ora di tempo di alimentazione dell'afide sulla fonte di inoculo — le percentuali di piante infettate sono state del 34 e 62, rispettivamente per il tipo comune e per l'altro („giallume di Romagna"). Nel secondo caso, invece — circa sei ore di suzione del vettore sul materiale

infetto — le percentuali di piante che questi vettori sono riusciti ad infettare sono state del 63 e 100 rispettivamente.

Ciò oltre a dimostrare un diverso grado di infeziosità fra i due mutanti, conferma anche quanto aveva già osservato WATSON (18) a proposito della capacità degli afidi di contrarre il virus. Questa, cioè, aumenta con l'aumentare del tempo che il vettore è lasciato a contatto dell'ospite ammalato.

Tentativi di introdurre un variante in piante infette dell'altro

A mezzo di afidi allevati su barbabietole presentanti il „giallume di Romagna", trasferiti successivamente su altre piante affette dalla forma normale di giallume, sono stati fatti tentativi di introdurre un variante nelle piante infette dall'altro. Contemporaneamente, per controllo, alcuni degli stessi afidi erano deposti su barbabietole sane.

Queste prove hanno sempre dato risultati negativi. Almeno, mai sono comparsi i sintomi dell'ingiallimento nervale delle giovani foglie, caratteristico del mutante che si cercava di introdurre nell'ospite già affetto dall'altro.

Ciò può far supporre l'impossibilità di una superinfezione, cioè della penetrazione di un ceppo di un virus nelle cellule ove è già presente un altro. Oppure. ammessa la superinfezione, si deve pensare ad una limitazione nella moltiplicazione del secondo variante tale che questo è incapace di produrre le solite alterazioni.

In considerazione di quest'ultima ipotesi afidi esenti da virus erano posti a succhiare (dopo 5—6 giorni dalla superinfezione) su dette piante, sia sulle foglie giovani centrali, ove in precedenza si erano nutriti i vettori che avrebbero dovuto inoculare il secondo variante — „il giallume di Romagna" — sia sulle foglie esterne con i comuni sintomi del giallume. Dopo otto ore questi erano trasferiti su barbabietole sane. Diverse di queste piante contrassero l'infezione; fra i sintomi però non è stato mai osservato la comparsa di quello dell'ingiallimento delle venature.

Fatti del genere sono noti nel campo dei virus, come riporta BAWDEN (2).

Gli stessi CLINCH e LOUGHNANE (7) hanno riscontrato l'impossibilità di riprodurre i sintomi del „Etch yellows" in piante colpite dalla forma di „Mild yellows", operando con la stessa tecnica.

Sintomi della infezione di „giallume di Romagna" su altre specie di piante

Il giallume, è noto, può colpire oltre che la barbabietola da zucchero, anche altri tipi di piante del genere *Beta*, ed alcune specie delle *Chenopodiaceae* e delle *Amarantaceae*.

Di entrambi questi tipi di piante è stato analizzato il comportamento di fronte all'attacco del nuovo tipo di giallume. E ciò in vista di una loro importanza sia come fonte di diffusione dell'infezione sia come ricoveri

del virus durante l'assenza delle colture di barbabietola da zucchero. Inoltre nella speranza, come abbiamo in precedenza accennato, che in qualcuna di queste piante i sintomi dell'infezione fossero tali da potere servire a meglio caratterizzare le due forme di giallume italiane.

Fig. 7. Giovane foglia di bietola da coste con manifestazioni primarie del „giallume di Romagna"

Fig. 8. Foglia di *Spinacia oleracea* L. con i primi segni macroscopici della nuova forma italiana di giallume

7

1. *Beta maritima*, bietola da coste, da insalata e da foraggio

Su questo gruppo di piante le manifestazioni dell'infezione del „giallume di Romagna" non differiscono da quelle osservate sulla barbabietola da zucchero e precedentemente descritte (cfr. pag. 162, v. fig. 7).

2. Spinacio d'inverno (*Spinacia oleracea* L.)

I primi sintomi macroscopici si avvertono, dopo, 12—14 giorni dall'infezione, su alcune foglioline centrali in via di sviluppo. Ad iniziare dall'apice si ha, cioè, una sorta di trasparenza del lembo, in corrispondenza del decorso dei fasci fibro-vascolari, per cui questi appaiono visibili in tutta la loro estensione, anche nelle ramificazioni più minute (v. fig. 8). Il parenchima fogliare si presenta così completamente percorso da un fine intreccio reticolato, che si mantiene per tutto il periodo in cui l'organo resta in vita.

Alla distanza di 8—10 giorni da questi sintomi, altri se ne avvisano sulle foglie esterne. Si tratta questa volta di una decolorazione pro-

gressiva ed uniforme del lembo fogliare, iniziante sempre dalla parte apicale, fino a far apparire quest'organo di una tinta giallo-chiara.

Le foglie così ridotte hanno generalmente una vita limitata. Ben presto presentano i segni di appassimento e successivamente disseccano completamente. Non è infrequente che anche tutta la pianta segua la stessa sorte.

Le alterazioni microscopiche rilevabili nei tessuti interessati da questa decolorazione che ricalca il decorso delle nervature, non diversificano da quelle ricordate per la barbabietola (cfr. pag. 164).

Fig. 9. Foglia di *Chenopodium murale* L. presentante i sintomi precoci dell'infezione del „giallume di Romagna"

3. *Chenopodium murale* L.

Anche su piante di *Chenopodium* l'infezione si presenta dapprima con dei sintomi primari limitati ad alcuni elementi dell'apparato fogliare della parte più alta della pianta. Dopo un periodo variabile fra 11—17 giorni dall'inoculo del virus appare, in qualche foglia giovane, quell'ingiallimento reticolato lungo il decorso delle nervature (v. fig. 9). Questo dapprima è discontinuo, per lo più limitato a qualche piccolo tratto, in corrispondenza degli elementi vasali più piccoli e solo dopo un po' di tempo appare in tutta la sua estensione. La decolorazione, comunque, non raggiunge quell'intensità riscontrabile nei tipi di piante ricordate in precedenza, se non quando si accompagnano i sintomi secondari dell'infezione: cioè quell'ingiallimento progressivo del lembo, che in queste foglie marca dapprima i tessuti in corrispondenza delle nervature risparmiando, per qualche tempo, la porzione internervale.

Le manifestazioni secondarie dell'infezione si avvertono all'inizio su tutte le foglie che hanno raggiunto il completo sviluppo. Come al solito consistono in una sostituzione progressiva della tinta verde normale con una giallo-paglierina. A questa si accompagna la comparsa di una pigmentazione rossastra lungo il bordo della foglia, che si estende al picciolo e a volte anche lungo le nervature principali.

Le foglie in questo stato si distaccano con facilità dalla pianta. Si ha una defogliazione progressiva in senso acropeto.

4. *Amarantus retroflexus* L. e *deflexus* L.

Nelle due specie i sintomi sono pressocchè identici. Qui la virosi non si presenta con quei segni primari, negli elementi fogliari più giovani, che abbiamo visto caratterizzano il quadro sintomatologico della malattia nelle altre piante. Le prime manifestazioni macroscopiche si hanno solo sulle foglie che hanno terminato il loro accrescimento, dopo 22—27 giorni dall'infezione.

Si riscontra un ingiallimento del lembo, che dall'apice della foglia si estende verso la base, risparmiando in un primo momento i tessuti lungo le nervature.

Questo fenomeno si accentua sempre più fino a fare assumere all'intero organo una colorazione giallastra uniforme. A questo punto subentra, di solito, un imbrunimento di certe porzioni del lembo, localizzate nel parenchima fra due nervature secondarie, oppure lungo i margini, per necrosi dei tessuti (v. fig. 10).

La foglia non appare più nella sua posizione normale, ma pendente, con tendenza ad accartocciarsi e ben presto si distacca dalla pianta.

Queste trasformazioni dell'aspetto normale delle due *Amarantaceae* risultano identiche a quelle che si osservano in seguito alla infezione del primo tipo di giallume.

Fig. 10. Due foglie di *Amarantus deflexus* L. con manifestazioni dell'infezione di „giallume di Romagna". A sinistra: stadio iniziale; a destra: stadio avanzato, con necrosi di porzioni della lamina fogliare

Le due specie di *Amarantus*, pertanto, non servono per il riconoscimento differenziale — in base ai caratteri esterni che presentano i soggetti ammalati — dal giallume normale del ceppo variante da noi individuato in Romagna.

Riassunto

Si descrive una nuova forma di giallume della barbabietola osservata nel nostro paese durante il 1953, che viene denominata „giallume di Romagna".

Di questa nuova virosi vengono riportati i sintomi macroscopici e microscopici studiati, in particolare, sulla barbabietola da zucchero. Inoltre a quelli su altre specie del genere *Beta* e su alcune piante coltivate o spontanee risultate sensibili alla malattia.

Il primo consiste in un ingiallimento delle nervature secondarie su alcune foglioline centrali che si stanno differenziando nel primo periodo dell'infezione; al quale fanno seguito i sintomi secondari della malattia, sotto forma di una decolorazione progressiva delle foglie man mano che queste raggiungono la maturità.

Le manifestazioni microscopiche sono caratterizzate da una ipoplasia degli elementi che compongono i fasci fibro-vascolari, e di quelli del parenchima clorofilliano circostante.

Il virus del „giallume di Romagna" è risultato possedere una maggiore infeziosità nei confronti dell'altro, agente della forma di giallume comune.

Tentativi di provocare una superinfezione, di introdurre cioè il variante („giallume di Romagna") in barbabietole affette dal giallume normale, sono costantemente falliti.

Summary

A new „Yellows" virus type of the beet, observed in Italy during 1953, for which is proposed the name of „Romagna's yellows" is here described.

The macroscopic and microscopic symptoms of this new virus are reported, especially those on the sugar beet. The symptoms on other species of the genus *Beta* and on some cultivated and wild plants which are susceptible to infection are studied too.

The first external symptom is a yellowing of the veinlets on some central leaves growing in the first period of the infection. The secondary symptom of the disease is a spread of the yellowing all over the leaves as they develop further.

The most important of the anatomical characteristics is a hypoplasia of the fibrous-vascular bundles and of the surrounding chlorophyllous parenchyme.

The „Romagna's yellows" virus is more infectious than that of the normal yellows virus.

Experiments to induce a superinfection, that is to introduce the first variety („Romagna's yellows") on sugar beets already infected by the normal yellows virus were unsuccessful.

Zusammenfassung

Ein neues, in Italien beobachtetes „Yellow"-Virus wird beschrieben und „Romagna Yellow" genannt. Seine makro- und mikroskopischen Symptome werden untersucht, insbesondere diejenigen auf Zuckerrüben. Die Sym-

ptome auf anderen Arten der Gattung *Beta* und auf weiteren Kultur- und Wildpflanzen wurden ebenfalls studiert.

Als erstes Symptom zeigt sich ein Gelbwerden der Nebenrippen einiger Blätter, welche in der ersten Periode der Infektion wachsen. Während der Weiterentwicklung der Blätter dehnt sich diese Vergilbung auf das ganze Blatt aus; dies ist das sekundäre Symptom.

Wachstumsstörungen der Gefäßbündel und des anliegenden chlorophyllhaltigen Parenchyms sind die wichtigsten anatomischen Charakteristika dieser Krankheit.

Das „Romagna Yellow" ist infektiöser als das gewöhnliche „Yellow"-Virus.

Versuche, vom gewöhnlichen „Yellow"-Virus befallene Zuckerrüben mit dem „Romagna Yellow" zu superinfizieren, blieben negativ.

Bibliografia

1. Artschwager, E., 1926: Anatomy of the vegetative organs of the sugar beet. J. Agric. Res. **33**, 143—176.
2. Bawden, F. C., 1950: Plant Viruses and virus diseases. Chronica Botanica Co.
3. Björling, K., 1949: Sugar beet yellows. Symptoms and influence on the yield of sugar beets in Sweden. Socker **5**, 119—140.
4. — —, 1952: On the significance of different vectors of sugar beet virus yellows. Acta Agric. Scandinavica **2**, 258—278.
5. Canova, A., 1953: Individuazione in Italia di alcune virosi della barbabietola. Italia Agricola **7**, 469—476.
6. — —: Rapporti tra cuscuta e virus del giallume della barbabietola. (Ann. Spec. Agr.: In corso di stampa.)
7. Clinch, P. E. M., Loughnane, J. B., 1948: Seed trasmission of virus yellows of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and existence of strains of this virus in Eire. Sci. Proc. Roy. Dublin Soc. **24**, 307—318.
8. Drachovská-Simanová, M., 1953: Virus diseases of sugar beet. Preslia **24**, 113—188. (Riassunto in R. A. M., 1954, **33**, 132.)
9. Esau, K., 1934: Ontogeny of phloem in the sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Amer. J. Bot. **21**, 632—644.
10. Hansen, H. P., 1950: Investigations on virus yellows of beets in Denmark. Trans. Dan. Acad. Tech. Sci. **1**, 68.
11. Hartsuijker, K., 1952: De Vergelingsziekte der bieten. I. Samenvattend verslag over het onderzoek in de jaren 1940—1948. Meded. Instit. Bergen op Zoom.
12. Klinkowski, M., Schmelzer, K., 1951: Das Gelbnetz-Virus der Betarübe, eine bisher in Deutschland noch nicht beobachtete Viruskrankheit. Nachr. f. d. deutsch. Pflanzenschutz, 21—24.
13. Roland, G., 1948: Sur une virose nouvelle de la betterave: la jaunisse des nervures. Parasitica **4**, 152—154.
14. Rietberg, H., 1952: De Vergelingsziekte der bieten. II. Aanvullende opmerkingen bij het verslag over 1940—1948. Meded. Instit. Bergen op Zoom.

15. SMITH, K. M., 1951: Recent advances in the study of plant viruses. J. & A. Churchill, London.

16. SORAUER, P., 1954: Handbuch der Pflanzenkrankheiten. Viruskrankheiten. Band II, 5. Aufl., P. Parey, Berlin.

17. SYLVESTER, E. S., 1948: The yellow-net virus disease of sugar beets. Phytopathology **38**, 429—439.

18. WATSON, M. A., 1940: Studies on the transmission of sugar beet yellows virus by the aphis *Myzus persicae* Sulz. Proc. Roy. Soc. B. **128**, 535—552.

19. — —, 1946: The transmission of beet mosaic and beet yellows viruses by aphides; a comparative study of a non-persistent and a persistent virus having host plants and vectors in common. Ibid. **133**, 200—219.

20. — —, HULL, R., BLENCOWE, J. W., and HAMLYN, B. M., 1951: The spread of beet yellows and beet mosaic viruses in the sugar beet root crop. I. Field observations on the virus diseases of sugar beet and their vectors *Myzus persicae* Sulz. and *Aphis fabae* Koch. Ann. appl. Biol. **38**, 743—764.

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich

Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann

Untersuchungen über die Pathogenität von Erregergemischen bei Getreidefußkrankheiten

Von

V. Flück

Mit 14 Abbildungen

Inhalt: I. Einleitung — II. Die verwendeten Parasiten und die Wirtspflanze. A. Die Parasiten; B. Die Wirtspflanze — III. Methoden. A. Kultur der Pilze und Wachstumsversuche; B. Die äußere Sterilisation und das Vorkeimen der Weizenkörner; C. Die Infektion der Weizenkeimlinge mit *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller; D. Die Umweltbedingungen während der Erkrankung; E. Ernte und Bonitierung der Versuchspflanzen und statistische Auswertung des Zahlenmaterials — IV. Wachstums- und Infektionsversuche mit *Ophiobolus graminis* Sacc. A. Der Einfluß von Aneurin, Biotin und Meso-Inosit auf das Wachstum; B. Infektionsversuche — V. Wachstums- und Infektionsversuche mit *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller. A. Der Einfluß von Aneurin, Biotin und Meso-Inosit auf das Wachstum; B. Infektionsversuche — VI. Das Verhalten von *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller in Mischkultur. A. Das Wachstum auf Wuchsstoff-Agar-Platten; B. Infektionsversuche mit Mischkulturen — VII. Mischinfektionen mit *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller. A. Der Einfluß des Kulturfiltrates von *Didymella exitialis* auf das Wachstum von *Ophiobolus graminis*; B. Der Verlauf der Erkrankung bei Mischinfektionen; C. Der Einfluß des Alters der Weizenkeimlinge auf den Verlauf der Mischinfektion — VIII. Besprechung der Ergebnisse — Zusammenfassung — Literaturverzeichnis.

I. Einleitung

Die durch *Ophiobolus graminis* Sacc. verursachte Fußkrankheit des Weizens ist bereits von mehreren Autoren eingehend untersucht worden (Fellows 1937; Garrett 1936, 1937, 1938, 1940, 1941, 1942, 1944; Winter 1940, 1942, 1948, 1950; Zogg 1950, 1951; u. a.). *Ophiobolus graminis* dürfte unter natürlichen Verhältnissen meist nicht allein auftreten, sondern zusammen mit anderen Erregern. Während die vorgenannten Autoren das Infektionsvermögen von *Ophiobolus graminis* allein betrachteten, unter-

suchten SANFORD and BROADFOOT (1931), BROADFOOT (1933), SLAGG and FELLOWS (1947) den Infektionsverlauf von *Ophiobolus graminis* in Kombination mit anderen Erregern. 1950, 1951 zeigte ZOGG an zahlreichen Beispielen, wie die Pathogenität einzelner Erreger (auch von *Ophiobolus graminis* Sacc.) durch die gleichzeitige Anwesenheit anderer beeinflußt werden kann. Er unterschied dabei folgende Typen der Mischinfektion:

1. Indifferenz: Der Befall durch die Mischinfektion entspricht demjenigen des stärksten Erregers in Einzelinfektion.
2. Depression: Der Befall durch die Mischinfektion ist deutlich niedriger als derjenige des stärksten Erregers in Einzelinfektion.
3. Verstärkung: Der Befall durch die Mischinfektion ist deutlich höher als derjenige des stärksten Erregers in Einzelinfektion.

Die Reaktionstypen Indifferenz und Depression lassen sich in zwei Untergruppen mit gleich starken und ungleich starken Erregern unterteilen (ZOGG, 1951). Über die Ursachen beim Zustandekommen dieser Typen der Mischinfektion ist noch wenig bekannt. Zwei Möglichkeiten kommen dabei besonders in Frage: 1. Pilzwidrige Stoffe; 2. Nahrungskonkurrenz. Ein weiterer Faktor liegt möglicherweise in den Wurzelausscheidungen der Wirtspflanze.

GÄUMANN (1951, S. 314) vermutet, daß eine Abnahme im parasitischen Erfolg einer Erregerkombination in der Ausscheidung pilzwidriger Stoffe zu suchen ist. Obwohl eine Vielzahl pilzhemmender Stoffe aus der Literatur bekannt ist (WAKSMAN 1937, ETTLINGER 1946, BARON 1950), gibt es recht wenige und im einzelnen noch nicht geklärte Angaben über Stoffe, die die Pathogenität von *Ophiobolus graminis* beeinflussen (BRÖMMELHUES 1935, MÜLLER-KÖGLER 1939, SLAGG and FELLOWS 1947, ZOGG 1951). Für die parasitische Eignung eines Erregers ist seine Ernährung von größter Wichtigkeit (GÄUMANN 1951, S. 297). Es wäre daher denkbar, daß schon durch eine mögliche Nahrungskonkurrenz allein die Pathogenität eines Erregergemisches weitgehend gesteuert wird. Die Möglichkeit besteht, daß nicht nur einer der genannten Faktoren den Verlauf einer Mischinfektion bestimmt, sondern deren Kombination. Dies dürfte zeigen, wie kompliziert die Dinge im Ablauf einer Mischinfektion liegen.

Die vorliegende Arbeit stellt folgende Versuchsfragen:

1. Wie verhalten sich *Ophiobolus graminis* Sacc., *Didymella exitialis* (Mor.) E. MÜLLER und ihre Kombination in vitro und in vivo?
2. Welchen Einfluß hat das präinfektionelle Zusammenleben der Erreger auf die Pathogenität ihres Gemisches?

II. Die verwendeten Parasiten und die Wirtspflanze

A. Die Parasiten

Es sind dieselben Pilzstämme, welche Zogg (1950) für seine Untersuchungen verwendet hat. Sie wurden aus Getreidestoppeln isoliert.

1. *Ophiobolus graminis* Sacc. Stamm 573. Der Pilz wurde isoliert von Stoppeln von *Hordeum vulgare* L., Fundort: Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. März 1949, leg. H. Zogg und E. Müller.

   Holm (1948) hat festgestellt, daß dieser Parasit von Saccardo zu Unrecht in die Gattung *Ophiobolus* eingeordnet wurde. Nach E. Müller (1952) wird der Pilz in die Nähe der *Gnomoniaceae* gestellt. Von von Arx und Olivier (1952) wurde der Pilz *Gäumannomyces graminis* (Sacc.) v. Arx und Olivier genannt. Petrak (1952) betrachtet die Gattung *Gäumannomyces* als ein Synonym zur Gattung *Linocarpon* und nennt den Pilz *Linocarpon cariceti* (B. et Br.) Petr. Da diese verschiedenen nomenklatorischen Auffassungen noch nicht völlig klar scheinen, möchte ich den bisher gebräuchlichen und auch dem Phytopathologen geläufigen Namen „*Ophiobolus graminis* Sacc." in dieser Arbeit beibehalten.

2. *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller. Nebenfruchtform: *Ascochyta sorghi* Sacc. (Syn. *Ascochyta graminicola* Sacc.) Stamm 761. Von dürren Blattscheiden von *Triticum vulgare* Vill. wurden Konidien des Pilzes isoliert. Fundort: Zürich-Affoltern, Reckenholz, 10. Juni 1949, leg. E. Müller.

   Müller (1952) hat bei dem hier verwendeten Stamm von *Ascochyta* die Hauptfruchtform nachgewiesen und mit *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller (Syn. *Sphaerella exitialis* Mor., *Didymella autumnalis* Petr.) benannt.

Die beiden Erreger stammen aus der Mykothek der Eidgenössischen Versuchsanstalt Zürich-Oerlikon. Sie wurden mir von Dr. Zogg in freundlicher Weise überlassen; ich möchte ihm hierfür meinen besten Dank aussprechen. Ebenso danke ich ihm für die Ratschläge, die er mir während dieser Arbeit erteilt hat.

B. Die Wirtspflanze

Bei sämtlichen Versuchen wurde *Triticum vulgare* Vill. Sommer-Weizen „Huron" als Wirtspflanze verwendet.

III. Methoden

A. Kultur der Pilze und Wachstumsversuche

Bei den ersten Infektionsversuchen (Methode, siehe Abschnitt III. C.) wurden die Erreger während 12 bis 15 Tagen bei 24 ± 1 ° C im Dunkeln einzeln und in Mischkultur auf Kleie kultiviert. Das Inoculum aus Kleiekulturen erwies sich jedoch später als ungeeignet. Bei Reproduktion der In-

fektionsversuche zeigten sich nämlich wesentliche Unterschiede im Befallsgrad, welche vermutlich auf eine ungleiche Ernährung der Erreger durch den variierenden Nährstoffgehalt der Kleie zurückgehen. Zudem verursachte schon nicht beimpfte Kleie leichte, dem Krankheitsbild ähnliche Verbräunungen an den Wurzeln der Weizenpflanzen. Aus diesen Gründen verwendeten wir mit einer rein synthetischen Nährlösung durchtränktes Terralit als Nährsubstrat. Terralit wird hergestellt aus Vermiculit, der zu Krümeln zermahlen und auf über 1000 ° C erhitzt wird. Als Vermiculit bezeichnet man eine Gruppe von Mineralien, die durch Zersetzung von Glimmern in Sedimentschichten entstanden. Vermiculit besitzt ein großes Adsorptionsvermögen (GRIMM, 1953). Die Zersetzung von Vermiculit durch hohe Temperaturen ist noch zu wenig studiert (WALKER, 1951). Infolge des Adsorptions- und Kationenaustauschvermögens ist eine gewisse Vorsicht bei der Verwendung von Terralit zu mikrobiologischen Arbeiten am Platz. Terralit wurde trotzdem verwendet, weil mit diesem Substrat eine gute Durchmischung der Pilzkulturen möglich ist und die Adsorptions- und Austauscheigenschaften die Versuche nicht störten. Die Pflanzen, infiziert mit den Parasiten, die einerseits auf Terralit + Nährlösung, andererseits nur auf Nährlösung vorkultiviert wurden, zeigten im Befallsgrad keine Unterschiede. Jedoch waren die Streuungen bei der Mischinfektion und der Infektion mit der Mischkultur größer; ohne Terralit wurde eine weniger intensive Durchmischung der Erreger erreicht. In 100-ml-Erlenmeyerkolben wurden jeweils 1,6 g Terralit und 20 ml Nährlösung eingefüllt. Für die Wachstumsversuche fiel das Terralit weg. Die Kultur der Pilze zur Gewinnung von Impfmaterial wird in der Folge als Vorkultur bezeichnet. Die Glaswaren wurden stets besonders gründlich gewaschen (siehe TUREL, 1952). Als Nährlösung verwendeten wir (sämtliche Substanzen in der Qualität „pro analysi"):

2 % Glukose; 1,2 ‰ Asparagin oder 1,24 ‰ Ammonnitrat; 1,5 ‰ KH_2PO_4; 0,5 ‰ $MgSO_4$; $FeCl_3$ 6 Tropfen 1%ige Lösung; 1000 ml aq. dest.

Zu dieser Lösung, die hier als Grundlösung bezeichnet wird, kamen je nach Versuch als Wuchsstoffe Aneurin, Biotin und Meso-Inosit hinzu. Sie wurden uns von der Firma Hoffmann — La Roche & Co. AG. in Basel zur Verfügung gestellt. Der Firma sei an dieser Stelle dafür bestens gedankt.

GARRETT (1939) hat gezeigt, daß *Ophiobolus graminis* in Kultur erst nach mehreren Wochen Sporen bildet; die Sporenbildung ist zudem noch von unbekannten Imponderabilien abhängig. Deshalb konnten keine Sporensuspensionen zu Impfzwecken verwendet werden. Die Pilzkulturen für die Infektions- und Wachstumsversuche wuchsen bei 24 ± 1 ° C. Die Kulturen für die Infektionsversuche wurden jeweils nach sieben Tagen gut durchgerührt und nach zwölf Tagen als Inoculum verwendet. Die Abb. 4 und 5 zeigen, daß die beiden Pilze bei 24 ° C nach zwölf Tagen auf einem Aneurin und Biotin enthaltenden Nährsubstrat ein ziemlich ausgeglichenes Wachstum aufweisen.

Bei den Wachstumsversuchen bestimmten wir das mittlere Myzelgewicht aus zehn Parallelkulturen. Die Myzelien wurden auf Papierfiltern abgenutscht, mit 6 × 100 ml destilliertem Wasser gewaschen (1 Teil siedend, 1 Teil kalt) und über Nacht im Thermostaten bei 50 bis 60 ° C vorgetrocknet und darauf während vier Stunden bei 103 ° C getrocknet. Dann wurden die Filter mit den Myzelien für 20 Minuten im Exsikkator unter Vakuum gebracht und darauf auf einer „Mettler"- Analysenwaage gewogen.

Die Zubereitung des Agars für die Wuchsstoff-Agar-Platten erfolgte nach der Methode von Zehnder (1949, S. 205). Von dem gereinigten Agar wurden 20 g einem Liter Grundlösung zugesetzt und die Wuchsstoffe vor dem Autoklavieren beigemischt.

B. Die äußere Sterilisation der Weizenkörner

Die Körner wurden während vier Stunden in Leitungswasser gequollen und hierauf zehn Minuten in Wasser von 52 ° C verbracht. In einem sterilen Gefäß versetzten wir die Körner während zwei Stunden mit einer Formalinlösung (2,5 ml Formalin auf 500 ml aq. dest. steril). Nach Abgießen der Formalinlösung im Impfkasten wurden die Körner mehrmals mit destilliertem, sterilem Wasser gewaschen, während vier bis fünf Minuten in 3%iges „Perhydrol" (Merck) getaucht, anschließend in steriles, befeuchtetes Filterpapier gewickelt und in sterilen Feuchtschalen bei 24 ± 1 ° C in der Dunkelheit vorgekeimt. Das Vorkeimen dauerte zwei Tage.

C. Die Infektion der Weizenkeimlinge

Tontöpfe von 7 cm oberem Durchmesser, zur Hälfte mit Terrralit gefüllt, sterilisierten wir vier Stunden bei 160 ° C. In jedem Topf wurde dann das Terralit mit einer gleichen Menge Knop-Lösung (ungefähr 40 ml) befeuchtet und das von den Pilzen durchsetzte Terralit in ungefähr 1 cm dicker Schicht auf das sterile Terralit gebracht. Zu Beginn der Untersuchungen verwendeten wir Impfmaterial aus Kleiekulturen. Die Gründe gegen die Verwendung von Kleie sind unter III. A. genannt.

Je Topf wurden nun je 20 möglichst gleich vorgekeimte Weizenkörner ausgepflanzt, mit Terralit bedeckt und jede Topfkultur nochmals mit 40 ml Knop-Lösung begossen. Die Kontrollreihen erfuhren dieselbe Behandlung mit Zugabe von Terralit + Nährlösung an Stelle des Impfmaterials. Bei der Mischinfektion traten die Erreger erst im Zeitpunkt der Infektion auf den Weizenkeimlingen miteinander in Kontakt. Im Gegensatz dazu steht die Infektion mit der Mischkultur. Hier hatten die Erreger schon auf dem Nährsubstrat der Vorkultur Gelegenheit, aufeinander einzuwirken (präinfektionelles Zusammenleben).

Ein Infektionsversuch setzte sich aus folgenden Komponenten zusammen:

1. Weizenkeimlinge infiziert mit *Ophiobolus graminis*.

2. Weizenkeimlinge infiziert mit *Didymella exitialis*.
3. Weizenkeimlinge infiziert mit *Ophiobolus graminis* und *Didymella exitialis*.
4. Infektion mit der Mischkultur der beiden Erreger.
5. Weizenkeimlinge nicht infiziert = Kontrolle.

Für jede dieser Komponenten benutzten wir Inoculum aus acht bis zehn Erlenmeyerkolben und legten damit fünf Parallelkulturen zu je 20 Pflanzen an. Alle Versuche wurden mindestens dreimal wiederholt.

D. Die Umweltbedingungen während des Krankheitsverlaufes

Die Tontöpfe mit den infizierten Weizenkulturen wurden in einer Gewächshauskabine aufgestellt, die wir zuvor mit einer 2%igen Sublimatlösung desinfizierten, um die Ansiedlung von fremden Organismen auf den Tontöpfen möglichst zu unterdrücken. Die Durchführung der Infektionsversuche erfolgte hauptsächlich in den kühleren Jahreszeiten, in den Monaten September bis Mai. Auf diese Weise konnten Temperaturen von 18 bis 24° C eingehalten werden. HENRY (1932) zeigte, daß die Pathogenität von *Ophiobolus graminis* in steriler Erde bei Temperaturen zwischen 18 bis 27° C unwesentlich beeinflußt wird. Mittels einer Düse hielten wir die Luftfeuchtigkeit auf 60 bis 70 %. Alle Topfkulturen wurden mit einer gleichen Menge sterilen Wassers stets feucht gehalten.

E. Ernte und Bonitierung der Versuchspflanzen und statistische Auswertung des Zahlenmaterials

Die Ernte der Versuchspflanzen erfolgte, wo nicht besondere Versuchsfragen vorlagen, nach 15 Tagen. Die Pflanzen wurden sorgfältig aus den Töpfen genommen, in Wasser gewaschen und hierauf bonitiert. Die Bonitierung geschah nach der von ZOGG (1951) modifizierten „Disease-Index"-Methode. Jede Pflanze wird mit drei

Tabelle 1

Bonitierungsschema für die durch verschiedene Erreger erzeugten Fußkrankheiten (nach ZOGG, 1951)

Befallsgrad	Charakteristik der Krankheitsbilder für Primärwurzeln, bzw. Sekundärwurzeln, bzw. Halmbasis
0	Pflanzenteile vollständig gesund, ohne irgendwelche Flecken
1	Leicht gelbliche Verfärbungen
2	Gelbliche bis bräunliche Verfärbungen, vereinzelt braune Streifen oder Flecken
3	Starke Verbräunungen, teilweise Vermorschungen, viele braune Streifen oder Flecken
4	Pflanzenteile total vermorscht oder verfault, abgestorben

Zahlen bonitiert: Primärwurzel, Sekundärwurzel und Halmbasis werden einzeln untersucht und bewertet. Auf diese Weise bonitierten wir einheitliche Elemente und schalteten Beobachtungsfehler weitgehend aus. Der Bonitierung der Primär- und Sekundärwurzeln sowie der Halmbasis liegt derselbe Maßstab zugrunde. Die Bonitierungsmethode ist in Tabelle 1 und Abb. 1 dargestellt.

Abb. 1. Schematische Wiedergabe der verschiedenen Befallsstärken 0 bis 4 auf dem Halmgrund und auf den Wurzeln von jungen Weizenpflanzen (nach Zogg, 1951)

Der Krankheitsindex K wurde nach folgender Formel berechnet (Gäumann 1951, S. 341):

$$K\,\% = \frac{\text{Summe aus } P + S + H \left(\begin{matrix}\text{Anzahl Individuen} \\ \text{je Befallsgrad}\end{matrix} \times \text{Befallsgrad} \right)}{12 \times \text{Gesamtzahl der geprüften Individuen}} \times 100$$

Die mathematisch-statistische Bewertung der Versuche erfolgte nach der Methode der Streuungszerlegung (Linder, 1951).

IV. Wachstums- und Infektionsversuche mit *Ophiobolus graminis* Sacc.

A. Der Einfluß von Aneurin, Biotin und Meso-Inosit auf das Wachstum

Um die Beziehungen zwischen Wachstum und Pathogenität der verwendeten Parasiten zu verfolgen, war es wichtig, alle Komponenten des Nährsubstrates zu kennen. Daher wurde eine rein synthetische Nährlösung für die Untersuchungen gewählt. White (1941) stellte fest, daß *Ophiobolus graminis* nur dann wächst, wenn ihm Aneurin und Biotin als Wuchsstoffe zur Verfügung stehen. Fellows (1936) und Garrett (1940) erwähnten, daß *Ophiobolus graminis* verschiedene Stickstoffverbindungen zum Wachstum ausnützen kann (Natriumnitrat, Ammonnitrat, Asparagin oder Glykokoll). Tabelle 2 zeigt den Wachstumsverlauf von *Ophiobolus graminis* unter Ausnützung von Asparagin bzw. Ammonnitrat als Stickstoffquelle. Um vergleichbare Resultate zu erhalten, wurde Asparagin bzw. Ammonnitrat in äquivalenten Mengen der Nährlösung zugesetzt (Lilly and Barnett, 1951, S. 20).

Tabelle 2 zeigt, daß *Ophiobolus graminis* mit Asparagin als Stickstoffquelle besser wächst als mit Ammonnitrat. Wir verwendeten daher stets Asparagin.

Tabelle 2

Wachstumsverlauf von *Ophiobolus graminis* Sacc. in Nährlösungen mit äquivalenten Mengen von Asparagin bzw. Ammonnitrat als Stickstoffquelle (Aneurin und Biotin je 50 γ/l Grundlösung)

N-Quelle	Wachstum in mg nach		
	5 Tagen	10 Tagen	15 Tagen
Asparagin 1,20 g/l	12 ± 1,7	88 ± 6,8	109 ± 9,0
Ammonnitrat 1,24 g/l	9 ± 1,5	46 ± 6,0	58 ± 4,2

Im folgenden Versuch wurden 5 γ Aneurin, 50 γ Biotin und 1500 γ Meso-Inosit einzeln und kombiniert einem Liter Grundlösung zugesetzt.

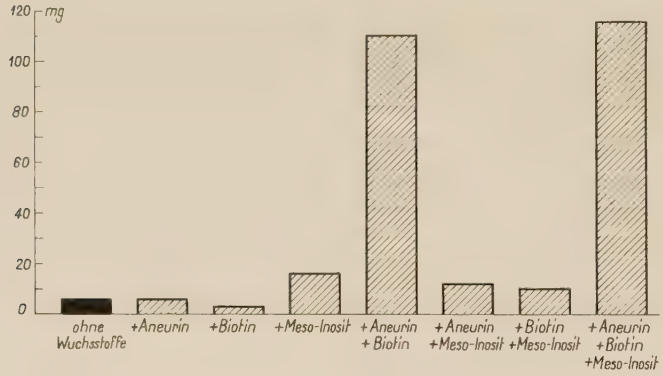


Abb. 2. Der Einfluß von 5 γ Aneurin, 50 γ Biotin und 1500 γ Meso-Inosit einzeln und kombiniert auf das Wachstum von *Ophiobolus graminis* Sacc. nach zwölf Tagen

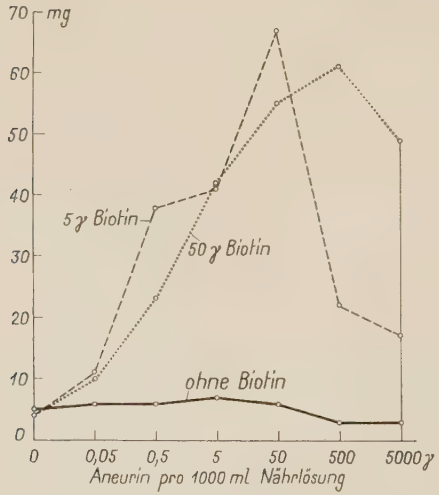


Abb. 3. Der Einfluß steigender Mengen von Aneurin bei konstanter Biotinmenge (5 γ bzw. 50 γ/l) auf das Wachstum von *Ophiobolus graminis* Sacc. nach zwölf Tagen

Die in Abb. 2 dargestellten Ergebnisse zeigen, daß die Untersuchungen von WHITE sich bestätigen, wonach *Ophiobolus graminis* Aneurin und Biotin zum Wachstum benötigt. Meso-Inosit übt in der verwendeten Konzentration keinen Einfluß auf das Wachstum aus. Der Parasit ist also nur in bezug auf Aneurin und Biotin heterotroph.

Wird bei einer konstanten Biotinmenge (5 γ oder 50 γ/l) die Aneurinmenge erhöht, so steigert sich das Wachstum des Pilzes wesentlich (Abb. 3).

Den in Abb. 3 dargestellten Ergebnissen ist folgendes zu entnehmen:

1. Steigende Mengen Aneurin allein üben auf das Wachstum von *Ophiobolus graminis* in Nährlösung keinen Einfluß aus.
2. In Gegenwart von 5 γ Biotin wächst *Ophiobolus graminis* bei 50 γ Aneurin optimal. Durch Erhöhung des Biotingehaltes auf das Zehnfache wird das Wachstum nicht weiter gesteigert.
3. Bei 5 γ Biotin wirken Aneurinmengen über 50 γ hemmend auf das Wachstum von *Ophiobolus graminis*. Diese Wachstumshemmung durch zu hohe Aneurinmengen kann durch gesteigerte Biotingaben (z. B. 50 γ/l) teilweise oder ganz unterdrückt werden.

Abb. 4.

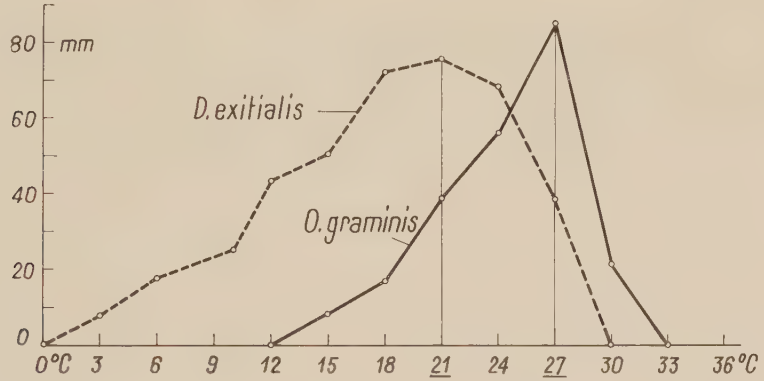


Abb. 4. Der Einfluß der Temperatur auf das Wachstum von *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller nach zwölf Tagen (Malz-Agar-Platten)

Das optimale Wachstum für den verwendeten Stamm von *Ophiobolus graminis* Sacc. liegt bei 27 ° C (Abb. 4). Den zeitlichen Wachstumsverlauf des Pilzes zeigt die Abb. 5.

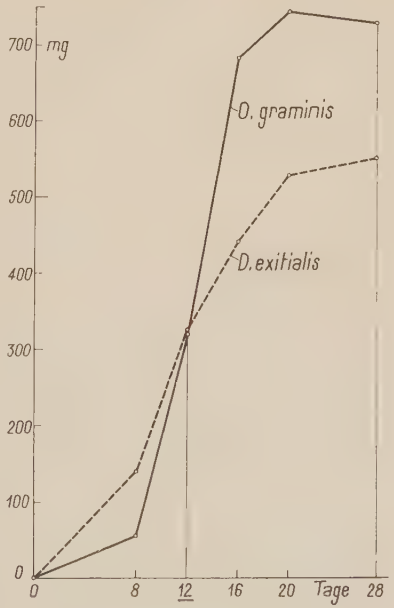


Abb. 5

Abb. 5. Der zeitliche Wachstumsverlauf von *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller bei 24 ± 1 ° C (in 500-ml-Erlenmeyerkolben)

B. Infektionsversuche mit *Ophiobolus graminis*

Nachdem die Untersuchungen über das Wachstum von *Ophiobolus graminis* gezeigt haben, daß der Pilz heterotroph ist in bezug auf Aneurin und Biotin, war es von Interesse, zu prüfen, ob diese beiden Wuchsstoffe einzeln oder in Kombination einen unterschiedlichen Einfluß auf das Infektionsvermögen des Parasiten ausüben. Wie bei den Wachstumsversuchen wurden Aneurin, Biotin sowie Meso-Inosit einzeln und kombiniert dem Substrat der Pilze zugesetzt. Die Methoden zu diesen Infektionsversuchen sind beschrieben auf Seite 181 und 182. Die in der Vorkultur verwendeten Wuchsstoffmengen und die Ergebnisse der Infektionsversuche sind in der Tabelle 4 aufgeführt.

Tabelle 3

Infektionserfolg von *Ophiobolus graminis* Sacc. auf jungen Weizenpflanzen nach 14 Tagen bei Verwendung von Asparagin bzw. einer äquivalenten Menge Ammonnitrat als N-Quelle in der Vorkultur (Aneurin und Biotin je 50 γ/l)

N-Quelle	Krankheitsindices K %
Asparagin 1,20 g/l	75,6 ± 1,8
Ammonnitrat 1,24 g/l	73,3 ± 1,4
Kontrolle	2,0 ± 1,5

Tabelle 4

Infektionserfolge auf jungen Weizenpflanzen mit *Ophiobolus graminis* Sacc. nach 15 Tagen bei Gegenwart von Aneurin, Biotin, Meso-Inosit und deren Kombinationen in der Vorkultur der Parasiten (A = Aneurin, B = Biotin, M = Meso-Inosit)

Wuchsstoffe	Krankheits-indices K %	Wuchsstoffe	Krankheits-indices K %
keine	39,8 ± 4,6	A 50 γ	83,0 ± 1,8
B 500 γ	46,6 ± 3,0	A + B	80,1 ± 2,9
M 1500 γ	54,0 ± 3,4	A + M	69,5 ± 3,7
B + M	56,6 ± 2,5	Kontrolle	3,0 ± 2,6

In einem Vorversuch wurde geprüft, ob die Verwendung von Ammonnitrat in äquivalenter Menge an Stelle von Asparagin einen Unterschied im Befall durch *Ophiobolus graminis* bewirkt. Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse: Es treten keine Unterschiede auf in der Erkrankung bei der Verwendung von Ammonnitrat an Stelle von Asparagin.

Aus Tabelle 4 ist ersichtlich, daß *Ophiobolus graminis* überall dort einen stärkeren Befall an Weizenpflanzen hervorruft, wo ihm in der Vorkultur Aneurin verabreicht wurde. Biotin, Meso-Inosit und deren Kombinationen im Substrat des Pilzes beeinflussen das Befallsvermögen in geringer Weise gegenüber dem Befall durch Impfmaterial ohne Wuchsstoffe. Schon

Aneurin allein erzielt eine deutliche Verschärfung der Erkrankung.

Steigende Mengen von Aneurin allein haben keinen Einfluß auf das Wachstum des Pilzes in Nährlösung (Abb. 3). Die Ergebnisse aus den Wachstums- und Infektionsversuchen lassen daher vermuten, daß Wachstum und Pathogenität bei *Ophiobolus graminis* nicht parallel gehen.

Um direkte Vergleiche zwischen Wachstum und Pathogenität anzustellen, wurden Infektionsversuche durchgeführt, bei denen die Erreger in der Vorkultur steigende Mengen von Aneurin erhielten. Die Biotinmenge (5 γ bzw. 50 γ/l) blieb dabei konstant. Die Ergebnisse veranschaulicht Abb. 6.

Sie zeigt folgendes:

1. Steigende Mengen von Aneurin allein erhöhen den Befall von Weizenpflanzen. Bei 50 γ/l ergibt sich ein deutliches Maximum der Erkrankung.
2. Bei einer konstanten Biotinmenge (z. B. 5 γ oder 50 γ/l) ist der Verlauf der Infektionskurve nicht wesentlich anders als in den Versuchen ohne Biotin. Daraus läßt sich vermuten, daß Aneurin zur Hauptsache verantwortlich ist für die Stärke einer Infektion durch *Ophiobolus graminis*.
3. Vergleicht man Abb. 3 mit Abb. 6, so folgt daraus, daß Wachstum und Pathogenität bei steigenden Mengen von Aneurin allein unter den angewandten Versuchsbedingungen nicht parallel gehen. Wird dagegen eine konstante Menge Biotin (5 γ oder 50 γ/l) zugegeben, so verlaufen Wachstum und Pathogenität im wesentlichen gleich.

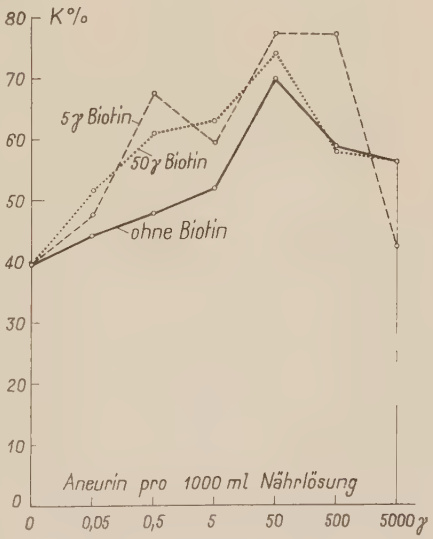


Abb. 6. Infektionserfolge mit *Ophiobolus graminis* Sacc. auf jungen Weizenpflanzen nach 15 Tagen bei steigenden Mengen von Aneurin und 5 γ bzw. 50 γ je Liter Biotin im Substrat der Vorkultur

Winter (1942) weist darauf hin, daß *Ophiobolus graminis* zwei Arten von Hyphen ausbildet:

a) Die eigentlichen parasitischen Hyphen, die Infektionshyphen; sie sind farblos, schmal und stark verzweigt. Sie durchwachsen von der Epidermis aus die Gefäßbündel und in fortgeschrittenen Stadien den gesamten Querschnitt der Wurzel. Eine Abbildung hierüber findet sich bei Garrett (1944, S. 20—21). In eigenen Untersuchungen konnten an zwölf Tage alten, an *Ophiobolose* erkrankten Weizenpflanzen die Beobachtungen von Garrett bestätigt werden.

b) Die Laufhyphen. Von ihnen gehen die Infektionshyphen aus. Sie wachsen auf der Oberfläche der Wurzel. Die Laufhyphen sind dunkel-

braun und breiter als die Infektionshyphen. WINTER (1942) sagt, daß das Wachstum der Laufhyphen unabhängig sei vom Nährstoffgehalt des Bodens. Ihre Ernährung geschähe lediglich über die Infektionshyphen aus dem Wirt.

Das gesteigerte Infektionsvermögen von *Ophiobolus graminis* bei der Gegenwart von Aneurin im Substrat der Vorkultur führte nun zu folgenden Vermutungen:

1. Es wäre denkbar, daß Aneurin die Ausbildung und das Wachstum der Laufhyphen in der saprophytischen Phase, d. h. in der Vorkultur, beeinflußt. Damit wäre bei der späteren Infektion die Möglichkeit gegeben, mehr Infektionshyphen auszubilden. Bei den Wachstumsversuchen auf Nährlösungen kann die Ausbildung der Laufhyphen aus Gründen der Versuchsmethoden nicht verfolgt werden. Wir müssen zu diesen Untersuchungen daher ein festes Nährsubstrat benützen.
2. Aus den Wurzeln der jungen Weizenpflanzen könnte über die Infektionshyphen Biotin herangeschafft werden, das dann zusammen mit dem Aneurin im Impfmaterial dem Pilz ein rascheres Gedeihen ermöglichen und damit eine stärkere Infektion bewirken würde. ROSENBERG (1945, S. 475) weist darauf hin, daß Biotin vor allem in Wurzelspitzen und Koleoptilen angereichert ist. Der Einfluß von Aneurin auf das Wachstum der Laufhyphen und damit auf die Infektion würde also erst in der parasitischen Phase zusammen mit Biotin erfolgen.
3. Die Anfälligkeit der Weizenpflanzen gegenüber *Ophiobolus graminis* könnte durch die Gegenwart von Aneurin gesteigert werden. GARRETT (1934, S. 672) und WINTER (1942, S. 205) sagen, daß eine etwaige Resistenzänderung der Wirtspflanze bei verschiedenen Ernährungsbedingungen keine Bedeutung hat für die Ausbreitung der Laufhyphen. Damit wird aber nichts ausgesagt über die Entwicklung der Infektionshyphen im Innern des Wirtes.

Die erste Vermutung, Aneurin allein wirke in der Vorkultur auf das Wachstum der Laufhyphen, führte zu folgendem Versuch:

Versuchsfrage: Kann durch Zusetzung von Aneurin, Biotin, Meso-Inosit oder deren Kombinationen zu einem festen Substrat ein Unterschied im Wachstum der Laufhyphen von *Ophiobolus graminis* festgestellt werden?

Mit gereinigtem Agar (Methode beschrieben auf Seite 181) wurden Nährböden in Petrischalen gegossen. Durch Zusatz von Wuchsstoffen wurden die Versuchsreihen 1 bis 8 mit je zehn Petrischalen angelegt:

1. Aneurin 500 γ
2. Biotin 5000 γ
3. Meso-Inosit 15 000 γ
4. keine Wuchsstoffe
5. A + B
6. A + M
7. B + M
8. A + B + M

Aus diesem Versuch (Tabelle 5) ergibt sich:

1. Ohne Zusatz von Wuchsstoffen ist das Wachstum der Laufhyphen am geringsten. Noch vorhandene Nährstoffreserven aus dem Impfstück könnten dieses Wachstum ermöglichen. Die dicken, braunen Hyphen können auf dem Substrat gut verfolgt werden. Sie bilden einzelne, wenig verzweigte Stränge.
2. Der Zusatz von Biotin, Meso-Inosit oder deren Kombination ergibt keinen wesentlichen Unterschied zu dem Ergebnis der Versuchsreihe ohne Wuchsstoffe.

Tabelle 5

Der Einfluß von Aneurin, Biotin, Meso-Inosit und deren Kombinationen auf das Wachstum der Laufhyphen von *Ophiobolus graminis* Sacc. in vitro (A = Aneurin 500 γ, B = Biotin 5000 γ, M = Meso-Inosit 15 000 γ)

Wuchsstoffe	Durchmesser der Kolonie in mm	
	nach 6 Tagen	nach 9 Tagen
keine	30 ± 3,0	45 ± 7,0
B	44 ± 1,4	55 ± 2,6
M	42 ± 2,0	48 ± 1,8
B + M	44 ± 1,6	47 ± 2,0
A	56 ± 2,2	92
A + B	68 ± 2,6	92
A + M	59 ± 2,2	92
A + B + M	62 ± 1,4	92

3. In allen Versuchsreihen, wo Aneurin zugesetzt wurde, erfolgte eine deutliche Steigerung des Wachstums. Die Versuchsreihen „A + B" und „A + B + M" ergeben hier ein dichtes Myzel wie bei den Kulturen in Nährlösung. In Nährlösung kann die Entwicklung der Laufhyphen allerdings nicht verfolgt werden; somit lassen sich keine Vergleiche anstellen. Bemerkenswert ist die Tatsache, daß Aneurin allein bei geeigneter Versuchsanordnung das Wachstum der Laufhyphen in vitro zu steigern vermag.

Ob die Wachstumssteigerung durch Aneurin vielleicht zusammen mit noch vorhandenen Spuren von Biotin im Agar stattfindet, konnte indessen noch nicht entschieden werden.

V. Wachstums- und Infektionsversuche mit *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller

Charakteristik des Pilzes: *Didymella exitialis* ist kein typischer Fußkrankheitserreger. Nach den meisten Angaben der Literatur (z. B. Frandsen, 1943; Sprague and Johnson, 1950; Sprague, 1950; Müller, 1952) infiziert der Pilz die Blätter und verursacht Blattflecken. Nach Zogg (1951) kann der

Pilz aber auch eine milde Fußkrankheit auslösen. Die Angaben von ZOGG werden in den unter Abschnitt B folgenden Infektionsversuchen bestätigt.

A. Der Einfluß von Aneurin, Biotin und Meso-Inosit auf das Wachstum

In den Wachstumsversuchen mit *Didymella exitialis* wurde in gleicher Weise vorgegangen wie bei den entsprechenden Versuchen mit *Ophiobolus graminis*. Die Temperaturversuche ergaben für den verwendeten Stamm von *Didymella* das Wachstumsoptimum bei 21 ° C (Abb. 4). Der zeitliche Wachstumsverlauf des Pilzes ist dargestellt in der Abb. 5.

Didymella exitialis erreicht auf der Grundlösung (ohne Wuchsstoffe) ein mittleres Myzelgewicht, das durch die verabreichten Wuchsstoffmengen nicht wesentlich verändert wird (Abb. 7). Der Pilz ist demnach autotroph in bezug auf Aneurin, Biotin und Meso-Inosit.

Bei Verwendung von Ammonnitrat an Stelle von Asparagin in der Grundlösung wächst *Didymella exitialis* nur dürftig. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 6 einander gegenübergestellt.

Tabelle 6

Wachstum von *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller mit Asparagin oder einer äquivalenten Menge Ammonnitrat als Stickstoffquelle (keine Wuchsstoffe in der Grundlösung)

N-Quelle	Wachstum in mg nach		
	5 Tagen	10 Tagen	15 Tagen
Asparagin 1,20 g l	8 ± 2,2	98 ± 8,8	128 ± 12,5
Ammonnitrat 1,24 g l	+	11 ± 2,2	9 ± 2,0

(+ = beginnendes Wachstum)

B. Infektionsversuche

In den Infektionsversuchen mit *Didymella* verwendeten wir in der Vorkultur dieselben Wuchsstoffe und Kombinationen wie bei den Infektionen mit *Ophiobolus graminis* (siehe S. 186 Tabelle 4). Tabelle 7 vermittelt die Ergebnisse dieser Versuche.

Tabelle 7

Infektionserfolge auf jungen Weizenpflanzen mit *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller nach 15 Tagen bei Gegenwart von Aneurin, Biotin, Meso-Inosit und deren Kombinationen in der Vorkultur der Parasiten (A = Aneurin, B = Biotin, M = Meso-Inosit)

Wuchsstoffe	Krankheitsindices: K %
keine	13,3 ± 4,7
A	9,8 ± 0,7
B	11,7 ± 4,0
M	12,5 ± 3,9
A + B	11,7 ± 2,4
A + M	14,7 ± 2,1
B + M	12,3 ± 2,3
A + B + M	12,8 ± 1,9

Infektionsverversuche mit Ammonnitrat an Stelle von Asparagin in der Vorkultur des Pilzes ergaben trotz des schlechteren Wachstums mit Ammonnitrat (Tab. 6) keine Unterschiede im Befallsvermögen. Aus den Infektionsversuchen mit *Didymella exitialis* kann somit gesagt werden:

Abb. 7. Der Einfluß von 5 γ Aneurin, 50 γ Biotin und 1500 γ Meso-Inosit einzeln und kombiniert auf das Wachstum von *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller

1. Der Parasit verursacht geringe Schäden an den Wurzeln von Weizenpflanzen.
2. Keiner der verabreichten Wuchsstoffe beeinflußt die Pathogenität des Parasiten. Zwischen den einzelnen Werten der Tabelle 7 bestehen keine statistisch gesicherten Differenzen.
3. Die N-Quelle und damit die Menge des Impfmaterials ergeben in dem angewandten Bereiche keine Unterschiede im Befallsgrad.

VI. Das Verhalten von *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller in Mischkultur

A. Das Wachstum auf Wuchsstoff-Agar-Platten

Zu dem folgenden Versuche stellten wir die Frage:

Besteht zwischen *Ophiobolus graminis* und *Didymella exitialis* ein Antagonismus in vitro, wenn die beiden Pilze nebeneinander und gleichzeitig oder zeitlich gestaffelt auf die gleiche Wuchsstoff-Agar-Platte geimpft werden?

Die Methode zur Herstellung der Nährböden ist auf Seite 181 beschrieben.

Ergebnisse: Auf dem Aneurin und Biotin enthaltenden Nährboden wuchsen bei gleichzeitiger Beimpfung die Hyphen der beiden Pilze auf einer Breite von ungefähr 5 mm durcheinander. Die Dichte der Myzelien ist in dieser Zone etwas geringer (Abb. 8). Dieses verminderte Wachstum in der Berührungszone darf jedoch kaum als Hemmung gewertet werden. In den zeitlich gestaffelten Kulturen wurde einem der Pilze jeweils ein Vorsprung von fünf oder zehn Tagen gewährt. Die zeitlich gestaffelten Kulturen zeigten indessen keine anderen Ergebnisse als die gleichzeitig beimpften Kul-

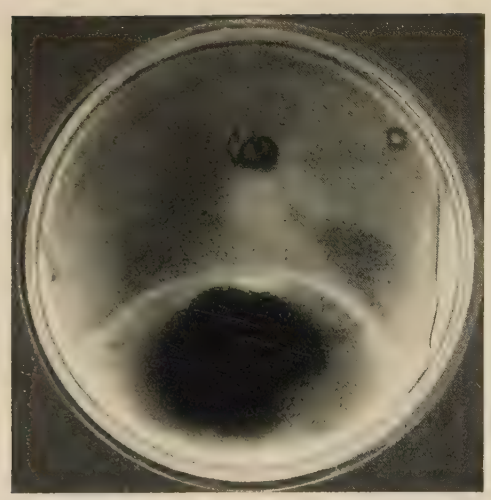


Abb. 8. Das Wachstum von *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller nach zwölf Tagen bei gleichzeitiger Beimpfung des Substrates (Nährsubstrat = 2 % Agar, gereinigt, + 50 γ Aneurin + 500 γ Biotin je Liter Grundlösung)

turen. Wurden dem gereinigten Agar keine Wuchsstoffe zugesetzt, so bildete *Ophiobolus graminis* nur wenig Myzel aus, das nicht mehr weiter wächst, wenn es mit den Hyphen von *Didymella exitialis* in Berührung kommt. Diese Versuche lehren somit, daß zwischen *Ophiobolus graminis* und *Didymella exitialis* in vitro kein Antagonismus besteht.

B. Infektionsversuche mit Mischkulturen

In den von ZOGG (1951) durchgeführten Infektionen mit Mischkulturen von *Ophiobolus graminis* und *Didymella exitialis* ließ sich zeigen, daß gegenüber den Infektionen mit *Ophiobolus graminis* allein eine Abnahme der Erkrankung erfolgt. Mit den hier angewandten Methoden konnten die Ergebnisse von ZOGG nur teilweise bestätigt werden.

Aus der Tabelle 8 ist ersichtlich, daß nur in zwei Fällen eine leichte Abnahme des Befallsgrades erfolgt (Reaktionstypen D—I); diese Abnahme läßt sich jedoch keinem bestimmten Wuchsstoff zuschreiben, und Wiederholungen des Versuches konnten die Ergebnisse nicht bestätigen. Vielmehr zeigte sich (wie in Tabelle 8), daß durch die Infektion mit der Mischkultur meist keine Unterschiede im Befall gegenüber der Infektion mit *Ophiobolus graminis* allein auftreten. In einzelnen Fällen konnten selbst Erhöhungen des Krankheitsindex bei Infektion mit der Mischkultur erfolgen. Daraus schließen wir, daß die Infektion mit der Mischkultur recht unterschiedlich verlaufen kann. Warum diese Labilität besteht und worauf sie beruht, konnte hier nicht festgestellt werden und muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Wir möchten vermuten, daß präinfektionell in der Mischkultur sich folgende Vorgänge abspielen, die dann den Verlauf der Infektion bestimmen:

1. Durch eine Nahrungskonkurrenz wird in der präinfektionellen Mischkultur die Vitalität von *Didymella exitialis* geschwächt. Bei der nachfolgenden Infektion bestimmt daher *Ophiobolus graminis* allein den Verlauf der Infektion.
2. *Ophiobolus graminis* wurde in der präinfektionellen Mischkultur gegen allfällige toxische Ausscheidungsprodukte von *Didymella exitialis* de-

Tabelle 8

Infektionserfolge mit den Mischkulturen von *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller bei Gegenwart von Aneurin, Biotin, Meso-Inosit und deren Kombinationen in der Vorkultur der Parasiten (A = Aneurin, B = Biotin, M = Meso-Inosit, I = Indifferenz, D = Depression)

Wuchsstoffe	Krankheitsindices: K %			Reaktionstypus	F-Test t-Test
	O. graminis allein	*D. existialis* allein	Mischkultur		
keine	58,6	14,1	58,5	I	F : 38,6 t : 3,5 4,8
A 50 γ	78,0	13,7	78,3	I	F : 128 t : 4,5 6,1
B 500 γ	56,5	14,8	54,1	I	F : 80,5 t : 7,5 10,0
M 1500 γ	48,7	12,3	37,1	D—I	F : 335 t : 7,9 10,0
A + B	78,5	24,2	77,1	I	F : 219 t : 5,4 7,3
A + M	74,5	20,6	77,7	I	F : 109 t : 7,5 10,0
B + M	59,1	21,5	47	D—I	F : 165 t : 4,1 5,6
A + B + M	81,9	19,7	77,5	I	F : 179 t : 6,2 8,4
Kontrolle	$3{,}2 \pm 1{,}2$				

sensibilisiert. Wiederum bestimmt *Ophiobolus graminis* bei der nachfolgenden Infektion den Verlauf der Erkrankung allein.

3. Die toxischen Stoffe von *Didymella exitialis* werden in gemeinsamer Kultur mit *Ophiobolus graminis* in so geringen Mengen produziert, daß sie bei der Infektion auf das Wachstum von *Ophiobolus graminis* keinen Einfluß haben.

Die Frage, ob die Konkurrenzfähigkeit von *Didymella exitialis* durch schlechte Ernährung geschwächt wird, wurde im folgenden Versuch geprüft:

Versuchsfrage: Wie ist der Erfolg der Mischinfektion, wenn *Didymella exitialis* in der Vorkultur eine zehnfach verdünntere Nährlösung erhält als *Ophiobolus graminis*?

Die Ergebnisse des Versuches sind in der Abb. 9 dargestellt; aus ihr läßt sich entnehmen:

1. Infektionen mit zehnfach schlechter ernährten Vorkulturen von *Didymella exitialis* weisen gegenüber den Infektionen mit normal ernährten Vorkulturen keine Unterschiede auf.

2. Bei normaler Ernährung der Erreger in der Vorkultur liegt der Krankheitsindex der Mischinfektion wesentlich tiefer als der Krankheitsindex von *Ophiobolus graminis* allein.

Wird dagegen *Didymella exitialis* in der Vorkultur schlechter ernährt, liegt der Krankheitsindex der Mischinfektion näher bei demjenigen von *Ophiobolus graminis.*

Das Konkurrenzvermögen von *Didymella* kann also durch schlechte Ernährung vermindert werden.

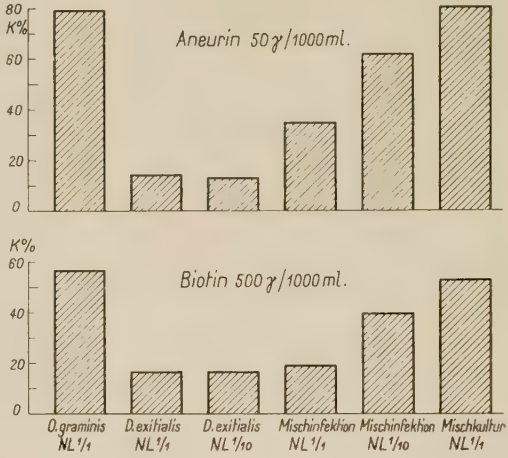


Abb. 9. Einfluß der Ernährung von *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller während der Vorkultur auf den Erfolg der Mischinfektion:
1. Beide Parasiten normal ernährt (NL 1/1);
2. *Ophiobolus* normal, *Didymella* zehnfach schlechter ernährt (NL 1/10).

Obere Versuchsreihe ohne Biotin, untere Versuchsreihe ohne Aneurin

VII. Mischinfektionen mit

Ophiobolus graminis Sacc. und *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller

Nach den Untersuchungen von Zogg (1951) erfolgt durch die Mischinfektion mit *Ophiobolus graminis* und *Didymella exitialis* gegenüber der Infektion mit *Ophiobolus graminis* allein eine Abnahme der Erkrankung an Weizenpflanzen. Der Krankheitsindex der Mischinfektion liegt zwischen den Indices, die von den beiden Parasiten allein erreicht werden. Zogg verwendete für seine Untersuchungen Impfmaterial aus Kleiekulturen. In eigenen Versuchen konnten seine Resultate mit derselben Methode bestätigt werden. Die Vorkulturen der beiden Pilze für die Mischinfektion wurden in gleicher Weise angelegt, wie dies in den Kapiteln IV. B. und V. B. beschrieben ist. Die Infektion mit einer frischen Mischung der Erreger erfolgte gleichzeitig zu den Parallelinfektionen mit *Ophiobolus graminis* und *Didymella exitialis* allein.

Die Infektionserfolge mit *Ophiobolus graminis*, mit *Didymella exitialis* und mit der Mischinfektion sind in der Tabelle 9 einander gegenübergestellt.

Tabelle 9

Infektionserfolge auf jungen Weizenpflanzen nach 15 Tagen mit einer frischen Mischung von *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller bei Gegenwart von Aneurin, Biotin, Meso-Inosit und deren Kombinationen in der Vorkultur der Parasiten (A = Aneurin, B = Biotin, M = Meso-Inosit; D = Depression)

Wuchsstoffe	Krankheitsindices: K %			Reaktionstypus	F-Test t-Test
	O. graminis allein	*D. exitialis* allein	Mischinfektion		
A 50 γ	78	13,7	49,7	D	F : 128 t : 4,5 6,1
B 500 γ	56,5	14,8	17,7	D	F : 80,5 t : 7,5 10,0
M 1500 γ	48,7	12,3	24,2	D	F : 335 t : 7,9 10,0
A + B	78,5	24,2	59,7	D	F : 219 t : 5,4 7,3
A + M	74,5	20,6	45,5	D	F : 109 t : 7,5 10,0
B + M	59,1	21,5	25,8	D	F : 165 t : 4,1 6,3
A + B + M	81,1	19,7	57,6	D	F : 179 t : 6,2 8,4
keine	58,6	14,1	20,7	D	F : 38,6 t : 3,5 4,8
Kontrolle	4,1 ± 2,1				

Daraus geht hervor, daß der Krankheitsindex bei Mischinfektionen in allen Fällen niedriger ist als bei Infektionen mit *Ophiobolus graminis* allein. Die Resultate sind alle statistisch gut gesichert. Die Abnahme der Erkrankung bei Mischinfektionen beträgt zwischen 15 und 35 %. Bei Gegenwart von Aneurin und Biotin im Impfmaterial ist die Abnahme im allgemeinen am geringsten; doch sind die Unterschiede statistisch nicht gesichert. Ob diese verminderte Abnahme der Erkrankung mit dem optimalen Gedeihen von *Ophiobolus graminis* bei Gegenwart der beiden Wuchsstoffe in Zusammenhang steht, ließ sich nicht entscheiden. In den nun folgenden Untersuchungen soll versucht werden, dem Mechanismus dieser Abnahme näherzukommen.

A. Der Einfluß des Kulturfiltrates von *Didymella exitialis* auf das Wachstum von *Ophiobolus graminis*

Zuerst prüften wir, ob die Abnahme der Erkrankung durch die Mischinfektion gegenüber der Infektion mit *Ophiobolus graminis* allein auf einer antagonistischen Beeinflussung durch Stoffwechselprodukte von *Didymella exitialis* beruht. Schon nach den Arbeiten von WINTER (1942) wird auf die besondere Empfindlichkeit von *Ophiobolus* gegenüber antagonistischen Einflüssen der Bodenmikroflora hingewiesen. Diese Beobachtungen sind von anderen Autoren (z. B. SLAGG and FELLOWS, 1947) bestätigt worden.

Abb. 10. Der Einfluß steigender Mengen von Kulturfiltrat der *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller aus zwölftägigen Kulturen auf das Wachstum von *Ophiobolus graminis* Sacc. nach zwölf Tagen (Aneurin und Biotin je 50 γ/l Grundlösung)

Wir verabreichten nun den Kulturen von *Ophiobolus graminis* in steigenden Mengen, stets ad 20 ml frischer Nährlösung mit Aneurin und Biotin, zwölf Tage altes *Didymella*-Kulturfiltrat. Das Kulturfiltrat wurde mit der Nährlösung autoklaviert. Wir verwendeten Kulturfiltrat aus zwölftägigen Kulturen, weil auch die Vorkultur der Parasiten für die Infektionsversuche zwölf Tage dauerte. Damit lassen sich engere Vergleiche anstellen zwischen der möglichen Wirkung von Hemmstoffen in vitro und den Ergebnissen der Mischinfektion.

Der Einfluß des Kulturfiltrates auf das Wachstum von *Ophiobolus graminis* ist in den Abb. 10 und 11 dargestellt.

Der Verlauf der Wachstumskurve von *Ophiobolus* in der Abb. 10 läßt zunächst eine deutliche Hemmung durch das Kulturfiltrat der *Didymella* erkennen. Diese Hemmung ist bei der Verabreichung von 2 ml Kulturfiltrat am ausgeprägtesten. Wird die Zugabe von Kulturfiltrat gesteigert, so erfolgt eine Verminderung der Hemmung. Diese Tatsache ließe sich möglicherweise folgendermaßen erklären:

Die Kurve der Abb. 10 setzt sich aus zwei Effekten zusammen, nämlich aus einem hemmenden und einem fördernden. Diese zwei Komponenten könnten damit zur folgenden theoretischen Rekonstruktion der Kurve führen:

Die Kurve der Hemmstoffe allein muß eine geringe Steigung aufweisen, die Kurve der Förderstoffe dagegen müßte rasch und steil ansteigen. Aus dieser Überlegung könnte der Verlauf der Kurve in Abb. 10 erklärt werden. Es müßten also im Kulturfiltrat Hemmstoffe in sehr geringer Menge oder von sehr geringer Aktivität gegen *Ophiobolus graminis* vorliegen. Die Wir-

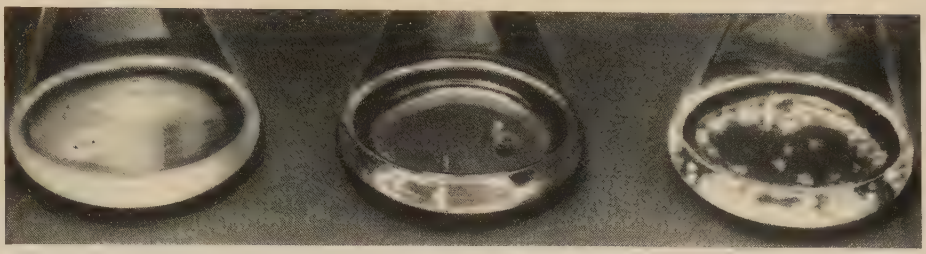


Abb. 11. Der Einfluß von 2 ml bzw. 6 ml Kulturfiltrat von *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller auf das Wachstum von *Ophiobolus graminis* Sacc. nach zwölf Tagen. Links: Kontrolle, Mitte: 2 ml Kulturfiltrat, rechts: 6 ml Kulturfiltrat (Nährsubstrat: Grundlösung + je 50 γ/l Aneurin und Biotin)

kung dieser Hemmstoffe würde durch das mengenmäßig größere Vorhandensein oder durch die höhere Aktivität der Förderstoffe zum Teil überdeckt.

Weitere Untersuchungen prüften die Frage, ob die Kulturfiltrate von *Didymella exitialis*, die Aneurin, Biotin oder beide Wuchsstoffe zusammen enthalten, eine unterschiedliche Hemmung gegenüber *Ophiobolus graminis* bewirken.

Je 2 ml Kulturfiltrat wurden 20 ml frischer Nährlösung beigemischt und das Wachstum von *Ophiobolus graminis* unter Einwirkung dieser Kulturfiltrate über fünf, zehn und fünfzehn Tage verfolgt. Ergebnisse (aufgeführt in der Tabelle 10):

Tabelle 10

Das Wachstum von *Ophiobolus graminis* Sacc. nach 5, 10 und 15 Tagen unter Einwirkung von Kulturfiltrat der *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller. Die Kulturfiltrate entstammen 12 Tage alten Kulturen, denen Aneurin, Biotin oder beide Wuchsstoffe zusammen zugesetzt wurde. (MS = Grundlösung; A = Aneurin 50 γ/l; B = Biotin; +,++ = steigende Myzelbildung, jedoch in noch nicht wägbarem Ausmaß; Kf. = Kulturfiltrat)

Nährlösung für *O. graminis* je 20 ml	Zusatz je 2 ml	5 Tage	10 Tage	15 Tage
MS + A + B	Kf.	—	+	9 ± 1,9
MS + A	(Kf. + A)	—	+	9 ± 3,8
MS + B	(Kf. + B)	—	+	6 ± 1,2
MS + A + B	(Kf. + A + B)	—	+	22 ± 7,0
MS + A	aq. dest.	+	++	10 ± 2,8
MS + B	aq. dest.	+	++	8 ± 2,4
MS + A + B	aq. dest.	++	75 ± 4,5	110 ± 9,0

1. Bei Gegenwart von Kulturfiltrat der *Didymella exitialis* wird (unabhängig vom Wuchsstoffzusatz) das Wachstum von *Ophiobolus graminis* während fünf Tagen unterdrückt. Die Kontrollen dagegen mit je 2 ml destilliertem Wasser an Stelle von Kulturfiltrat lassen nach dieser Zeit deutliches, wenn auch noch nicht wägbares Myzel feststellen.

2. Zwischen fünf und zehn Tagen klingt die hemmende Wirkung des Kulturfiltrates ab, und zwischen zehn und fünfzehn Tagen erfolgt ein deutlich erhöhtes Wachstum.
3. In den Kulturen, die neben Kulturfiltrat Aneurin oder Biotin enthalten, ist das Wachstum nach fünfzehn Tagen nicht verschieden von demjenigen der Kontrollen.
4. Enthält die Nährlösung neben dem Kulturfiltrat der *Didymella exitialis* Aneurin u n d Biotin, so ist das Wachstum vom zehnten Tage an deutlich stärker, als wenn die beiden Wuchsstoffe einzeln zugegeben werden; das Wachstum ist aber immer noch erheblich geringer als dasjenige der Kontrolle mit Aneurin und Biotin. In diesem Falle ist also auch nach fünfzehn Tagen eine deutliche Hemmwirkung des Kulturfiltrates festzustellen.

In den Versuchen der Tabelle 10 wird die zuvor geäußerte Vermutung bestätigt, wonach Hemmstoffe unter den hier vorliegenden Bedingungen eine geringe Aktivität gegenüber *Ophiobolus graminis* besitzen, da die absolute Hemmwirkung nur während fünf Tagen andauert.

Wir untersuchten nun, ob die toxische Wirkung des Kulturfiltrates von *Didymella exitialis* auch gegenüber anderen Mikroorganismen besteht. Die Prüfung des Kulturfiltrates aus der Grundlösung ohne Aneurin und Biotin erfolgte gegen *B. subtilis, B. megatherium* und gegen *Ustilago zeae.*

Zwölf Tage altes, u n b e h a n d e l t e s K u l t u r f i l t r a t erwies sich als i n a k t i v gegenüber den verwendeten Testorganismen. Es wurden dann 1,5 Liter Kulturfiltrat aus zwölftägigen Kulturen mit einer gleichen Menge Äther „pro analysi" ausgeschüttelt, der Ätherphase 10 ml destilliertes Wasser zugesetzt, der Äther am Vakuum abgedampft und der Rückstand getestet gegen die obenerwähnten Organismen. Gegen *B. subtilis* konnte keine, gegen *B. megatherium* nur eine Spur von Aktivität festgestellt werden. Die Teste gegen *Ustilago zeae* ergaben jedoch eine Aktivität von 29 E/ccm. Als Kontrolle diente eine gleich behandelte, dem Kulturfiltrat entsprechende Nährlösung, jedoch mit einer zehnfach geringeren Zuckermenge. Die Prüfung der Kontrolle ergab nirgends eine Aktivität.

Da erst konzentrierte Mengen von Kulturfiltrat sich aktiv erweisen gegen *Ustilago zeae*, können keine unmittelbaren Vergleiche gezogen werden zu der Hemmwirkung gegen *Ophiobolus graminis.*

Um weitere Aufschlüsse über Hemmstoffe aus dem Kulturfiltrat von *Didymella exitialis* zu erhalten, müßten künftig größere Mengen von Kulturflüssigkeit untersucht werden.

Wenn nun eine ähnliche Hemmwirkung der *Didymella exitialis* auf *Ophiobolus graminis* auch in v i v o auftritt, so müßte der Krankheitsindex der Weizenpflanzen bei Mischinfektionen in den ersten fünf Tagen geringer sein als bei *Ophiobolus graminis* allein und anschließend vor allem zwischen zehn und fünfzehn Tagen wesentlich ansteigen. Versuche zu dieser Vermutung sollen im nächsten Abschnitt besprochen werden.

B. Der Verlauf der Erkrankung bei der Mischinfektion

Wir verfolgten den Infektionsverlauf mit einer frischen Mischung der Erreger während fünf, zehn und fünfzehn Tagen. Zu Vergleichszwecken wurden parallel und gleichzeitig Infektionen mit *Ophiobolus graminis* allein und *Didymella exitialis* allein durchgeführt. Das Impfmaterial stammte in jedem Fall aus zwölftägigen Vorkulturen.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in der Tabelle 11 dargestellt und in den Abb. 12 und 13 veranschaulicht.

Tabelle 11

Infektionserfolge nach 5, 10 und 15 Tagen auf jungen Weizenpflanzen mit *Ophiobolus graminis* Sacc., *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller und einer frischen Mischung der Parasiten (Aneurin und Biotin je 50 γ/l im Substrat der Vorkultur)

	Krankheitsindices: K % nach		
	5 Tagen	10 Tagen	15 Tagen
O. graminis	38	73,4	85,9
D. exitialis	10,1	15,8	17,9
Mischinfektion	14,6	21,7	57,8
Kontrolle	0	2,5	2,1
F-Test	215,7	507	146,9
t-Test	2,9	4,0	9,2
	4,2	5,5	12,5

Dem Kurvenverlauf der Mischinfektion in der Abb. 12 läßt sich entnehmen:

1. Der Befall der Weizenpflanzen durch die Mischinfektion ist zwischen null und zehn Tagen wesentlich geringer als durch *Ophiobolus graminis* allein.
2. Auch zwischen zehn und fünfzehn Tagen ist der Krankheitserfolg der Mischinfektion deutlich geringer als derjenige von

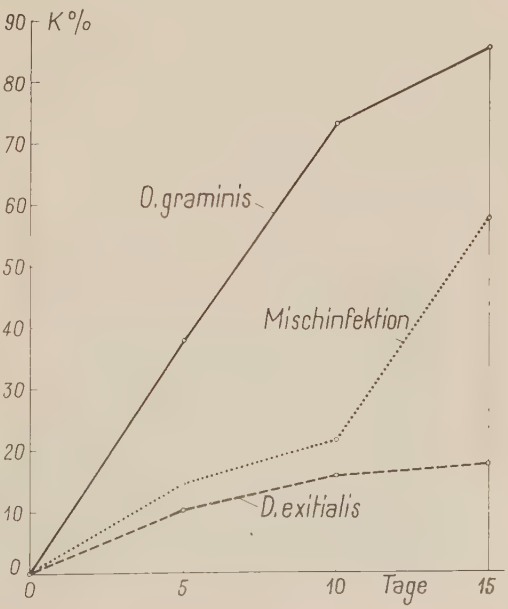


Abb. 12. Die Erkrankung von Weizenpflanzen nach fünf, zehn und fünfzehn Tagen durch *Ophiobolus graminis* Sacc., *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller und deren frische Mischung (Aneurin und Biotin je 50 γ/l im Substrat der Vorkultur)

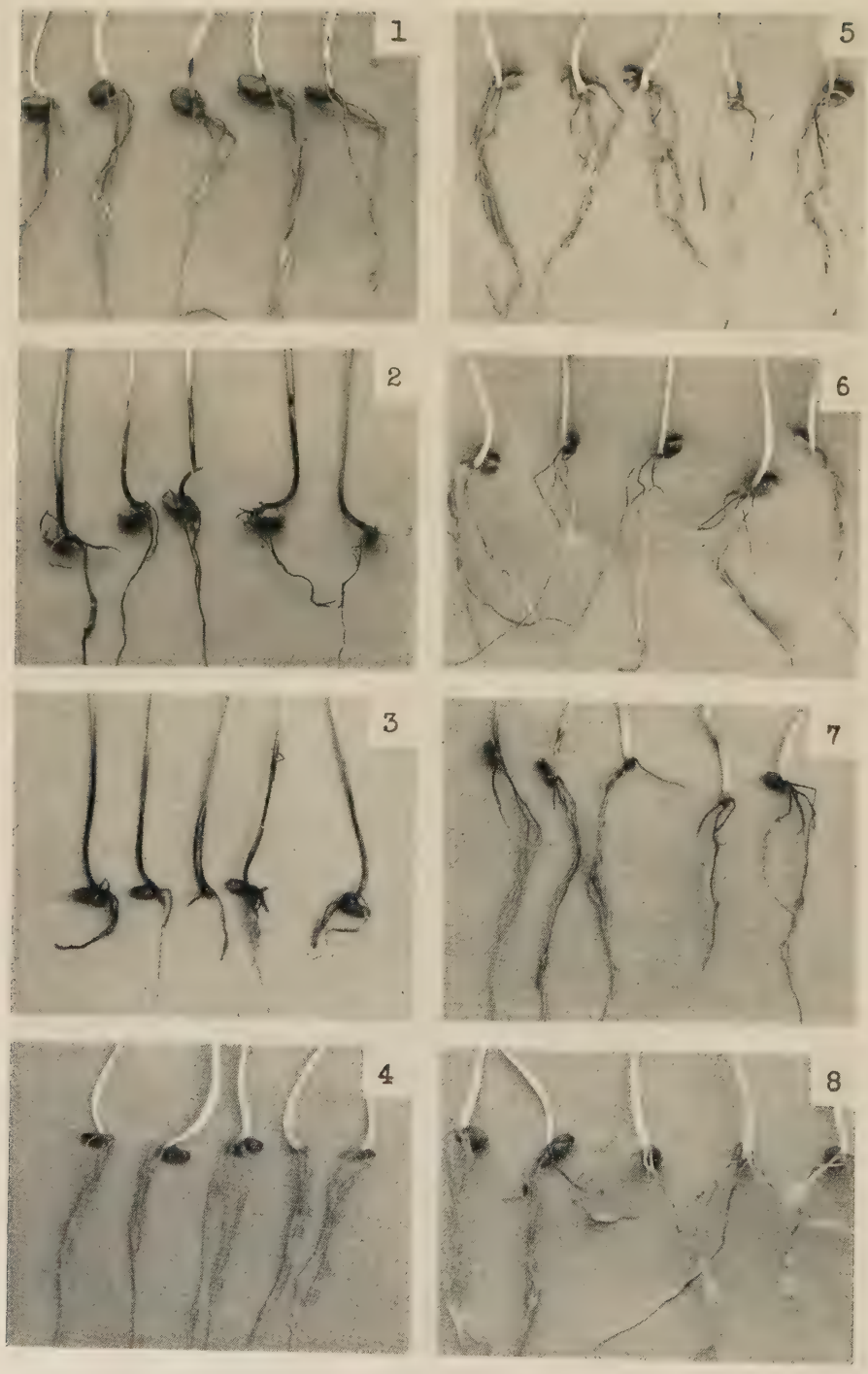


Abb. 13.

Ophiobolus graminis; er steigt aber in dieser Zeit an und ist nach fünfzehn Tagen wesentlich höher als der Krankheitsindex von *Didymella exitialis.*

Diese Resultate stimmen gut mit den Erwartungen überein. Während fünf Tagen wird *Ophiobolus graminis* durch das Kulturfiltrat der *Didymella* stark gehemmt; die Mischinfektion zeigt in derselben Zeit kaum einen Unterschied zu der Infektion mit *Didymella exitialis* allein. Zwischen zehn und fünfzehn Tagen erfolgt ein intensiver Wachstumsanstieg von *Ophiobolus* (Tabelle 10); in der gleichen Zeitspanne ist ein Anstieg der Erkrankung durch die Mischinfektion gut erkennbar.

Wir möchten daraus schließen, daß die geringere Erkrankung bei der Mischinfektion auf eine antagonistische Beeinflussung des *Ophiobolus graminis* durch Stoffwechselprodukte von *Didymella exitialis* zurückzuführen ist.

C. Der Krankheitsverlauf bei Mischinfektionen an Weizenkeimlingen verschiedenen Alters

Da der Befallsgrad der Mischinfektion vom zehnten Tage an stark ansteigt, sollte man erwarten, daß er — wenn auch mit starker Verspätung — schließlich doch noch den mit *Ophiobolus graminis* allein erhaltenen Befallsgrad erreicht. Nach den durchgeführten Versuchen trifft das jedoch nicht zu. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, daß die Krankheitsanfälligkeit der Weizenpflanzen mit dem Alter abnimmt. Die folgende Frage wurde daher geprüft: Wie ist der Infektionserfolg mit *Ophiobolus graminis* allein, *Didymella exitialis* allein und mit der Mischinfektion, wenn die Weizenkeimlinge in verschiedenem Alter infiziert werden?

Weizenkörner wurden null, zwei, vier und sechs Tage unter sterilen Bedingungen vorgekeimt. Dann wurden die verschieden großen Keimlinge parallel und gleichzeitig mit jedem Erreger einzeln und mit deren frischer Mischung infiziert.

Erklärung zu Abb. 13

Nr. 1—3: Infektionserfolg auf jungen Weizenpflanzen mit *Ophiobolus graminis* Sacc. nach fünf, zehn und fünfzehn Tagen.

Nr. 4: Fünfzehn Tage alte, nicht infizierte Weizenpflanzen. (Aneurin und Biotin je 50 γ/l im Substrat der Vorkultur)

Nr. 5—6: Erkrankung junger Weizenpflanzen nach fünf, zehn und fünfzehn Tagen durch die Mischinfektion mit *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller.

Nr. 8: Infektionserfolg auf jungen Weizenpflanzen mit *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller nach zehn Tagen (die Schadbilder nach fünf und fünfzehn Tagen zeigen keine wesentlichen Unterschiede).

Ergebnisse (dargestellt in Abb. 14):

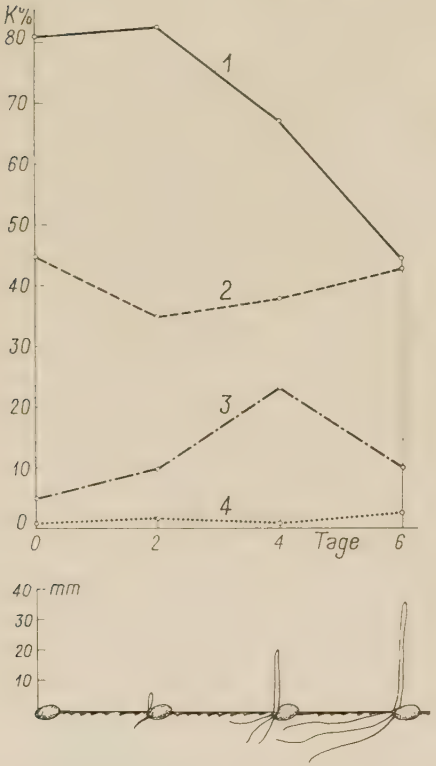


Abb. 14. Infektionserfolge mit *Ophiobolus graminis* Sacc. — Kurve 1 —, *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller — Kurve 3 — und deren frischen Mischung — Kurve 2 — auf null, zwei, vier und sechs Tage vorgekeimten Weizenpflanzen. Kurve 4 = nicht infiziert. (Aneurin und Biotin je 50 γ/l im Substrat der Vorkultur)

1. Die Anfälligkeit der Weizenkeimlinge für *Ophiobolus graminis* nimmt mit zunehmendem Alter ab.
2. Der Befallsgrad von Weizenkeimlingen zunehmenden Alters durch *Didymella exitialis* bleibt mehr oder minder unverändert. Die gesteigerte Infektion an vier Tage alten Weizenpflanzen beruht auf einem Zufall und ist nicht reproduzierbar.
3. Werden sechs Tage alte Weizenkeimlinge mit *Ophiobolus graminis* allein infiziert, so resultiert daraus praktisch der gleiche Krankheitserfolg wie bei der Mischinfektion zwei Tage alter Weizenkeimlinge. Dies spricht für die Annahme, daß die Weizenpflanzen nach einer bestimmten Zeit für *Ophiobolus graminis* weniger anfällig sind. Damit wird aber auch erklärt, warum der Krankheitsindex der Mischinfektion denjenigen von *Ophiobolus* nicht erreicht: Im Moment, da in der Mischinfektion das Wachstum von *Ophiobolus graminis* ansteigt (nach zehn Tagen), ist die Anfälligkeit der Weizenpflanzen schon zu stark vermindert.

VIII. Besprechung der Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit konnten wir die Ergebnisse von ZOGG (1951) bestätigen, nach denen der Krankheitsindex der Mischinfektion von *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller tiefer liegt als derjenige der Infektion von *Ophiobolus graminis* allein.

Um den Ursachen dieser Erkrankungsabnahme bei der Mischinfektion näherzukommen, wurden zwei Möglichkeiten in Betracht gezogen:

1. Die Ausscheidung pilzwidriger Stoffe durch *Didymella exitialis* und deren Wirkung auf *Ophiobolus graminis* und
2. die Nahrungskonkurrenz zwischen den beiden Erregern.

Im Verlauf der Arbeiten zeigte sich die Notwendigkeit, zwei weitere Fragen zu prüfen, nämlich:

3. den Einfluß des Alters der Weizenpflanzen auf ihre Krankheitsanfälligkeit und
4. den Einfluß von Wuchsstoffen auf das Wachstum und die Pathogenität der Erreger.

Die Besprechung der Ergebnisse gliedert sich nach diesen vier Problemen.

a) Die Untersuchungen über einen allfälligen Einfluß toxischer Stoffe des *Didymella*-Kulturfiltrates auf *Ophiobolus graminis* führten zu dem Ergebnis, daß Stoffwechselprodukte von *Didymella* aus zwölftägigen Kulturen des Pilzes das Wachstum von *Ophiobolus* während fünf Tagen stark zu hemmen vermögen (Tabelle 10). Zwischen zehn und fünfzehn Tagen steigt jedoch das Wachstum von *Ophiobolus* rasch an. Das Myzelgewicht der optimal ernährten Kontrolle (mit Aneurin und Biotin) wird jedoch auch nach fünfzehn Tagen nicht erreicht. Werden steigende Mengen von *Didymella*-Kulturfiltrat den Kulturen von *Ophiobolus* verabreicht, so erfolgt in jedem Falle eine Wachstumshemmung während fünf Tagen. Nach zwölf Tagen wird jedoch das Wachstum von *Ophiobolus graminis* durch steigende Zugaben von Kulturfiltrat nicht etwa weiterhin gehemmt, sondern im Gegenteil gefördert. Es wird daher vermutet, im *Didymella*-Kulturfiltrat seien zwei Komponenten, nämlich eine hemmende und eine fördernde, vorhanden, deren Wirkungen auf *Ophiobolus* sich überlagern. Der Hemmstoff müßte dabei in geringerer Menge gebildet werden oder eine geringere Aktivität aufweisen als die Förderkomponente. Mit dieser Annahme ließe sich der Verlauf der Kurve in Abb. 10 erklären. Die chemische Natur dieser Stoffwechselprodukte von *Didymella exitialis* ist zur Zeit noch nicht bekannt. Künftige Arbeiten müßten z. B. prüfen, ob die Einwirkung des *Didymella*-Kulturfiltrates eventuell im Zusammenhang steht mit dem Bedarf an Aneurin bzw. Biotin des *Ophiobolus graminis*. Sebrell and Harris (1954) weisen darauf hin, daß zu Biotin analoge Verbindungen auf verschiedene Mikroorganismen einen hemmenden Effekt ausüben. Meist erfolgt diese Hemmung auf einer konkurrenzierenden Basis beim Bedarf von Biotin. Ähnlich wirkende Analoge sind bekannt von Aneurin (Lilly and Barnett, 1951). Goldberg et al. (1947) nennen einige Biotin-Homologe, die Mikroorganismen hemmen. Die Frage müßte geprüft werden, ob im *Didymella*-Kulturfiltrat Aneurin bzw. Biotin-Analoge oder Biotin-Homologe vorhanden sind, die das Wachstum von *Ophiobolus* hemmen. Damit würde das Problem auf das Gebiet des Metabolismus—Antimetabolismus verschoben (Woolley, 1952). Auf jeden Fall konnte hier gezeigt werden, daß Stoffwechselprodukte der *Didymella* das Wachstum von *Ophiobolus* hemmen und damit vermutlich die Abnahme der Erkrankung bewirken.

b) Die Nahrungskonkurrenz zwischen den beiden Parasiten. Mit verschieden ernährten Vorkulturen wurden Mischinfek-

tionsversuche durchgeführt. Werden beide Parasiten normal ernährt, so liegt der Krankheitsindex der Mischinfektion tiefer als derjenige von *Ophiobolus graminis* allein; ist dagegen *Didymella* zehnfach schlechter ernährt als *Ophiobolus*, so nähert sich der Krankheitsindex der Mischinfektion demjenigen von *Ophiobolus* (Abb. 9). Das Konkurrenzvermögen der *Didymella* wird also durch eine schlechte Ernährung vermindert. Wir vermuten daher, daß der Verlauf der Mischinfektion nicht allein durch pilzwidrige Stoffe, sondern auch durch Ernährungsfaktoren gelenkt wird.

Daher lassen sich möglicherweise die Infektionsversuche mit der Mischkultur folgendermaßen erklären: Im Gegensatz zu den Mischinfektionen erzielt die Mischkultur keine oder nur eine sehr geringe, statistisch nicht gesicherte Abnahme der Erkrankung. Auch bei anderer Vorkultur (z. B. mit Kleie) ist der Infektionserfolg der Mischkultur sehr labil. Die Vitalität von *Didymella* könnte infolge Nahrungskonkurrenz präinfektionell vermindert werden. Es wäre aber auch denkbar, daß *Didymella* in der Mischkultur Stoffwechselprodukte, die *Ophiobolus* zu hemmen vermögen, in unwirksamen Mengen produziert oder daß *Ophiobolus* diesen Hemmstoffen gegenüber desensibilisiert worden ist.

Auf jeden Fall bestimmt *Ophiobolus graminis* allein den Verlauf der Infektion durch die Mischkultur.

c) Der Einfluß des Alters der Weizenkeimlinge auf ihre Krankheitsanfälligkeit. Die Krankheitssymptome von fünf und zehn Tage alten Mischinfektionen sind wenig verschieden von denjenigen von *Didymella* allein (Abb. 12). Zwischen dem zehnten und fünfzehnten Tage erfolgt jedoch ein starker Anstieg im Befall durch die Mischinfektion. Diese Ergebnisse stimmen gut überein mit den Versuchen über den Einfluß des Kulturfiltrates von *Didymella* auf das Wachstum von *Ophiobolus*. Während fünf Tagen wird das Wachstum von *Ophiobolus graminis* stark gehemmt. Im gleichen Zeitabschnitt lassen sich kaum Unterschiede feststellen zwischen dem Krankheitsindex der Mischinfektion und demjenigen von *Didymella exitialis* allein.

Zwischen dem zehnten und dem fünfzehnten Tage steigt das Wachstum von *Ophiobolus* an, und gleichzeitig erfolgt ein Anstieg der Erkrankung durch die Mischinfektion. Der Krankheitsindex erreicht jedoch denjenigen von *Ophiobolus graminis* allein nicht. Wir vermuteten daher, daß im Moment, wo das Wachstum von *Ophiobolus* in der Mischinfektion ansteigt (zwischen zehn und fünfzehn Tagen), die Anfälligkeit der Weizenpflanzen schon zu stark vermindert ist. Diese Vermutung wird durch Versuche bestätigt. Die Krankheitsanfälligkeit der Weizenpflanzen nimmt mit dem Alter ab. Sechs Tage alte, mit *Ophiobolus* infizierte Weizenkeimlinge ergeben keinen wesentlich verschiedenen Befallsgrad gegenüber zwei Tage alten, mit der Mischinfektion infizierten Pflanzen (Abb. 14).

Diese Versuche erklären, warum der Krankheitsindex der Mischinfektion denjenigen von *Ophiobolus graminis* allein nicht erreicht.

d) Der Einfluß der Wuchsstoffe auf das Wachstum und die Pathogenität der Erreger. Das Myzelwachstum von *Ophiobolus graminis* (auf festen oder flüssigen Nährmedien) wird durch Zugabe von Aneurin allein nicht beeinflußt. Durch die Zugabe von Aneurin in festes Substrat wird dagegen das Wachstum der Laufhyphen gesteigert (Tabelle 5). Wenn Aneurin dem Substrat der Vorkultur zugesetzt wurde, ergaben die Infektionsversuche mit *Ophiobolus* einen wesentlich höheren Krankheitsindex (Tabelle 4). Wir möchten diese Pathogenitätserhöhung des *Ophiobolus* durch Aneurin wie folgt erklären:

1. Das Wachstum der Laufhyphen wird präinfektionell durch Aneurin gesteigert. Somit wäre es möglich, bei Infektionsbeginn eine vermehrte Bildung von Infektionshyphen zu erlangen. Oder

2. das im Impfmaterial vorhandene Aneurin steigert nach der Infektion das Wachstum der extramatrikalen Laufhyphen, möglicherweise zusammen mit noch unbekannten Imponderabilien. Der Erreger dringt nun rascher der Wurzel entlang zur Halmbasis vor, wo er seine endgültige endophytische Lebensweise beginnt und schwere Schädigungen auslöst.

Somit wäre die Wirkung des Aneurins derjenigen des *Didymella*-Kulturfiltrates entgegengesetzt. Die Stoffwechselprodukte von *Didymella* verlangsamen das Wachstum des *Ophiobolus* auf die Halmbasis hin. Abb. 13 zeigt, daß die Mischinfektion erst nach fünfzehn Tagen am Halmgrund Nekrosen auslöst, während *Ophiobulus* allein in der gleichen Zeit die Halmbasis schon stark zerstört hat.

Wachstum und Pathogenität von *Didymella exitialis* werden durch die genannten Wuchsstoffe nicht beeinflußt. Die geringe Pathogenität dieses Pilzes wird durch Zugabe von Wuchsstoffen nicht erhöht.

Zusammenfassung

1. Unter Verwendung eines synthetischen Nährsubstrates mit den Wuchsstoffen Aneurin, Biotin, Meso-Inosit und deren Kombinationen wurden Wachstums- und Infektionsversuche mit den beiden Parasiten *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller durchgeführt.

   Die Untersuchungen von White (1941) und Gilpatrick and Henry (1950) wurden bestätigt, wonach *Ophiobolus* heterotroph ist in bezug auf Aneurin und Biotin.

2. Steigende Mengen Aneurin allein üben auf das Myzelwachstum von *Ophiobolus* in Nährlösung keinen Einfluß aus. Auf festem Nährsubstrat wird durch Aneurin allein das Wachstum der Laufhyphen, nicht aber das Myzelwachstum gesteigert.

3. Aus den Infektionsversuchen mit *Ophiobolus graminis* ergab sich, daß Aneurin zur Hauptsache verantwortlich ist für die Stärke des Befalles. Steigende Mengen von Aneurin allein im Substrat der Vorkultur des Parasiten erhöhen die Erkrankung der Weizenpflanzen. Somit geht die Pathogenität dem Myzelwachstum in Nährlösung nicht parallel, wohl aber dem Wachstum der Laufhyphen auf festem Substrat.
4. *Didymella exitialis* ist autotroph bezüglich Aneurin, Biotin und Meso-Inosit. Diese Wuchsstoffe und deren Kombinationen steigern das Befallsvermögen des Pilzes nicht.
5. Die beiden Parasiten zeigen in vitro keinen Antagonismus.
6. Der Infektionserfolg durch die Mischkultur ist sehr labil. Meist erfolgte bei den hier verwendeten Methoden keine Abnahme der Erkrankung gegenüber der Infektion mit *Ophiobolus* allein.
7. Die Mischinfektion führte stets zu einer Abnahme der Erkrankung. Der Krankheitsindex der Mischinfektion liegt 15 bis 35%, in einzelnen Fällen bis 40% tiefer als derjenige von *Ophiobolus*.
8. *Didymella*-Kulturfiltrat hemmt *Ophiobolus graminis* stark während fünf Tagen (Tabelle 10). Der Krankheitsindex der Mischinfektion ist in dieser Zeit tiefer als derjenige von *Ophiobolus*. Nach dem fünften Tage vermindert sich die Hemmwirkung des *Didymella*-Kulturfiltrates, und das Wachstum von *Ophiobolus* steigt an; parallel dazu erhöht sich der Krankheitsindex der Mischinfektion und liegt nach fünfzehn Tagen deutlich höher als derjenige von *Didymella*. Wir halten deshalb eine toxische Wirkung des *Didymella*-Kulturfiltrates in erster Linie für verantwortlich für die Abnahme der Erkrankung durch die Mischinfektion.
9. Wird *Didymella* in der Vorkultur zehnfach schlechter ernährt als *Ophiobolus*, so liegt der Krankheitsindex der Mischinfektion höher als bei normaler Ernährung beider Parasiten. Daher vermuten wir, das Konkurrenzvermögen der *Didymella* werde durch schlechte Ernährung vermindert.
10. Der Befall der Weizenpflanzen durch *Ophiobolus graminis* nimmt mit dem Alter ab. Sechs Tage alte, mit *Ophiobolus* infizierte Weizenkeimlinge ergeben im wesentlichen den gleichen Befall wie zwei Tage alte, mit der Mischinfektion infizierte Keimlinge. Damit wird erklärt, warum der Krankheitsindex der Mischinfektion denjenigen von *Ophiobolus graminis* nicht erreicht: Im Moment, da in der Mischinfektion eine deutlich pathogene Wirkung des *Ophiobolus* einsetzt, sind die Keimlinge weniger anfällig.

Meinem sehr verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. E. Gäumann, möchte ich für die großzügige Förderung dieser Arbeit meinen besten Dank aussprechen.

Literaturverzeichnis

von Arx, J. A. und Olivier, D. L., 1952: The taxonomy of *Ophiobolus graminis* Sacc. Transact. Brit. Myc. Soc. **35**, 29—33.

Baron, A. L., 1950: Handbook of Antibiotics (Reinhold Publishing Corp.), New York, 303 S.

Broadfoot, W. C., 1933 a: Studies on the foot and root rot of wheat. I. Effect of age of the wheat plant upon the development of foot and root rot. Canad. J. Res. **8**, 483—491.

Brömmelhues, M., 1935: Die wechselseitige Beeinflussung von Pilzen und die Bedeutung der Pilzkonkurrenz auf das Ausmaß der Schädigung an Weizen durch *Ophiobolus graminis* Sacc. Zbl. Bakt. Abt. 2, **92**, 81—116.

Ettlinger, L., 1946: Antibiose und antibiotische Stoffe der Pflanzen. Schweiz. Z. Pathol. und Bakteriol. **9**, 352—378.

Fellows, H., 1936: Nitrogen utilization by *Ophiobolus graminis*. J. Agric. Res. **53**, 765—769.

— —, 1937: The infestation of soil with *Ophiobolus graminis* and its subsequent increase and spread in the soil. Phytopathology **27**, 956.

Frandsen, N. O., 1943: *Septoria*-Arten des Getreides und anderer Gräser in Dänemark. Meddeldser fra Plantepatologisk Afdeling den Kgl. Veterinaer- og Landbohjskole, Kobenhavn **26**, 92 p. p.

Garrett, S. D., 1934: Factors affecting the severity of take-all. J. Agric. South Australia **37**, 664, 799, 976.

— —, 1936: Soil conditions and the take-all of wheat. Ann. Appl. Biol. **23**, 667—699.

— —, 1938: Soil conditions and the root infecting fungi. Biol. Rev. **13**, 159—185.

— —, 1939: Soil conditions and the take-all disease of wheat. IV. Factors limiting infection by Ascospores of *Ophiobolus graminis*. Ann. Appl. Biol. **24**, 47—55.

— —, 1940: Soil conditions and the take-all disease of wheat. V. Further experiments on the survival of *Ophiobolus graminis* in infected wheat stubble buried in the soil. Ann. Appl. Biol. **27**, 199—204.

— —, 1941: Soil conditions and the take-all of wheat. VII. Survival of *Ophiobolus graminis* on the roots of different grasses. Ann. Appl. Biol. **28**, 325—332.

— —, 1942: The take-all disease of cereals. Imperial bureau of soil science. Technical communication No. 41.

— —, 1944: Root Disease Fungi (Waltham, U. S. A.) 177 S.

— —, 1950: Ecology of the root inhabiting fungi. Biol. Rev. **25**, 220—254.

Gäumann, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre 2. Aufl. Birkhäuser, Basel, 681 S.

Gilpatrick, J. D. and Henry, A. W., 1950: The effect of nutritional factors on the development of *Ophiobolus graminis* Sacc. Rev. Appl. Mycology **24**, 327.

Goldberg, M. W., Sternbach, L. H., Kaiser, S., Heinemann, S. D., Schneider, J., Rubin, S. H., 1947: Antibiotic effect of some biotin-homologs. Arch. Biochem. **14**, 480—482.

Grim, R. E., 1953: Clay Mineralogy. Mc Graw-Hill Book Company, Inc., New York, 384 S.

Henry, A., 1932: Influence of soil temperature and soil sterilisation on the reaction of wheat seedlings on *Ophiobolus graminis*. Can. J. Res. **7**, 198—203.

Holm, L., 1948: Taxonomical notes on Ascomycetes. I. The Swedish species of the genus *Ophiobolus Riess*, sensu Sacc. Svensk. Bot. Tidskr. **42**, 337—347.

Lal, A., 1939: Interaction of soil microorganisms with *Ophiobolus graminis* Sacc. the fungus causing the take-all of wheat. Ann. Appl. Biol. **26**, 247—261.

Lilly, V. G. and Barnett, H. L., 1951: Physiology of the Fungi. Mc Graw-Hill Book Company, Inc., New York, 464 S.

Linder, A., 1951: Statistische Methoden für Naturwissenschafter, Mediziner und Ingenieure 2. Aufl. Birkhäuser, Basel, 238 S.

Müller, E., 1952: Pilzliche Erreger der Getreideblattdürre. Phytopath. Z. **19**, 403—416.

Müller-Kögler, E., 1938: Untersuchungen über die Schwarzbeinigkeit des Getreides und den Wirtspflanzenkreis ihres Erregers. Arb. Biol. Reichsanst., Berlin **22**, 271—319.

Petrak, F., 1952: Über die Gattungen *Gäumannomyces* v. Arx et Olivier, *Halophiobolus* Linder und *Linocarpon* Syd. Sydowia **6**, 383—388.

Rosenberg, H. R., 1945: Chemistry and Physiology of the Vitamins, Interscience Publishers, Inc., New York, 676 S.

Sanford, G. B. and Broadfoot, W. C., 1931: Studies on the effect of other soil inhabiting microorganisms on the virulence of *Ophiobolus graminis*. Sci. Agric. **11**, 512—528.

Sebrell, W. H. and Harris, R. S., 1954: The Vitamins, Bd. II. Academic Press, Inc. Publishers, New York, 766 S.

Slagg, C. M. and Fellows, H., 1947: Effects of certain soil fungi and their byproducts on *Ophiobolus graminis*. Journ. Agric. Res. **41**, 97—123. (Ref. Rev. Appl. Mycology **27**, 1948, 228—229).

Sprague, R., 1950: Diseases of Cereals and Grasses in North America. The Ronald Press Company, New York, 538 S.

— — and Johnson, A. G., 1950: *Ascochyta* leaf spots of cereals and grasses in the United States. Mycologia **42**, 523.

Turel, F. L., 1952: Der Einfluß von Aneurin und Zink auf das Wachstum und die Toxinproduktion von *Fusarium solani* (Mart.) App. et Wr. Phytopath. Z. **19**, 307—342.

Waksman, S. A., 1947: Microbial Antagonisms and Antibiotic Substances. Commonwealth-Funds, New York, 415 S.

Walker, G. F., 1951: Vermiculite and some related Mixed-Layer Minerals, "X-ray identification and structure of the Clay Minerals". Mineralogical Soc. of Great Brit. Monograph, Chap. 7, 199—223.

White, N. H., 1941: Physiological studies of the fungus *Ophiobolus graminis* Sacc. J. Council Sci. and Industr. Res. **14**, 137—146.

Winter, A. G., 1939 b: Untersuchungen über den Einfluß biotischer Faktoren auf die Infektion des Weizens durch *Ophiobolus graminis*. Z. Pflanzenk. u. Pflanzensch. **50**, 113—134.

— —, 1942: Der Einfluß partieller Sterilisation des Bodens auf die Entwicklung der Laufhyphen von *Ophiobolus graminis*. Phytopath. Z. **14**, 204—302.

— —, 1947: Eine Methode zur quantitativen Bestimmung des Wachstums parasitischer oder saprophytischer Pilze im natürlichen Boden. „Festschrift Appel", Biol. Zentralanst. Berlin-Dahlem.

— —, 1949: Untersuchungen über die Beziehungen zwischen *Ophiobolus graminis* und anderen Organismen mit Hilfe der Aufwuchsplattenmethode. Arch. Mikrobiol. **14**, 240—270.

— —, 1950: Untersuchungen über die Oekologie und den Massenwechsel bodenbewohnender mikroskopischer Pilze. I. Die Bedeutung organischer Nährstoffe für die Entwicklung von *Ophiobolus graminis* in der Rhizosphäre und im freien Boden. Arch. Mikrobiol. **15**, 42—71.

Woolley, D. W., 1952: A Study of Antimetabolites. John Wiley & Sons, Inc., New York, 269 S.

Zehnder, A., 1949: Über den Einfluß von Wuchsstoffen auf Flechtenbildner. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **59**, 201—267.

Zogg, H., 1950: Über Mischinfektionen des Getreides. Schweiz. Z. Pathol. und Bakteriol. **8**, 574—579.

— —, 1951: Studien über die Pathogenität von Erregergemischen bei Getreidefußkrankheiten. Phytopath. Z. **18**, 1—54.

Aus dem Institut für landwirtschaftliche Virusforschung,
Biologische Bundesanstalt, Braunschweig

Ein Ringfleckenvirus von Buschbohnen

Von

L. Quantz

Mit 8 Abbildungen

Bei Besichtigungen von Buschbohnenparzellen am Stadtrand von Lübeck und in einem anderen Falle in freier Feldlage im Gebiet der Lüneburger Heide (Niedersachsen) Ende Juli 1953 fielen mehrfach Pflanzen der Sorte Doppelte holländische Prinzeß auf, die in der Größe deutlich zurückgeblieben waren und deren jüngere Fiederblätter braune nekrotische, zuweilen ringähnliche Flecken trugen. Preßsaftübertragungen von derartig verdächtigen Pflanzen ergaben im Gewächshaus auf Buschbohnen und weißer Lupine sowie auf Tabak charakteristische, mit Nekrosen einhergehende Symptome, die auf eine dem Tabak-Ringspotvirus (*Annulus tabaci* H.) nahestehende Virusart hinwiesen. Ihr Nachweis ist als Bestätigung eines früher von Kotte und Köhler auf Stangenbohnen gemachten und bisher in Deutschland einzelstehenden Fundes eines Ringspotvirus auf Bohnen von Interesse. Darüber hinaus erscheint diese Bohnenringfleckigkeit bemerkenswert im Hinblick auf die in den letzten Jahren aufgetretene Bukett-Krankheit der Kartoffel durch ein

Abb. 1. Buschbohnen (Sorte Idaho Refugee) mit starken lokalen und systemischen Nekrosen durch das Ringspotvirus von Bohnen. Epinastie der eingeriebenen Primärblätter

Ringspotvirus (*Solanumvirus deformans*, KÖHLER 1952). Es wurden daher zwei Virusisolate von den beiden Fundorten in den Spätsommer- und Herbstmonaten näher untersucht. Hinsichtlich der Versuchstechnik gelten die bei früheren Untersuchungen gemachten methodischen Angaben (QUANTZ 1953). Alle Abbildungen zeigen künstlich durch Saftübertragung infizierte Pflanzen.

Abb. 2. Systemische Blattnekrosen auf Buschbohnen (Sorte Genfer Markt)

Das Symptombild auf Buschbohnen. Das Krankheitsbild auf künstlich infizierten Buschbohnen kann in wechselnder Stärke lokale Nekrosen und systemische chlorotische und nekrotische Fleckungen, ferner Blattverformungen, Absterben der Blätter und Triebspitzen, sowie gelegentlich auch mosaikähnliche Färbungen umfassen. Bei künstlicher Infektion eines umfangreichen Buschbohnensortimentes fanden sich keine vollkommen resistenten Sorten. Auf Buschbohnen verschiedener Sorten treten auf den eingeriebenen Primärblättern nach etwa vier Tagen deutliche grau- bis rötlich-braune lokale Nekrosen als strichelartige Verfärbung einzelner Adernpartien oder als zerstreute rundliche Flekken auf, die bis etwa 1 mm, bei manchen Sorten aber auch bis mehrere Millimeter Durchmesser haben. Die Primärblätter sind dabei an den Stielen oft epinastisch herabgewinkelt.

Meist greift die Infektion bald auf die jungen sich entfaltenden Fiederblätter und die Triebspitze über, die dann unter Bräunungen oft schon vor oder bei der Entfaltung des ersten gefiederten Blattes eintrocknen (Abb. 1). Gelangen die ersten Fiederblätter noch zur Entfaltung, so sind sie meist verschieden dicht mit chlorotischen, in ihrem Zentrum durchweg nekrotischen, teilweise auch ringartigen braunen Flecken besetzt. Auch an den Äderchen färben sich die Blätter dann braun und krausen sich; die Fiedern welken und trocknen von den Rändern her ein, wobei sie sich nach oben einrollen und leicht abgeworfen werden (Abb. 2). Bei starker oder totaler Nekrose des jungen Haupttriebes entwickeln sich später in den Achseln der Primärblätter neue Seitentriebe. In anderen Fällen erholt sich aber auch der

Haupttrieb und wächst spitzenwärts wieder mit normaleren Blättern durch. An diesen können jedoch andersartige Deformationen auftreten, indem einzelne Fiederchen oder ganze Blätter kleiner bleiben, andere Blätter durch Nekrosen entlang den Blattadern gekraust sind oder auch einzelne Fiederchen durch halbseitige Wachstumsstörungen sichelförmig eingebogen werden (Abb. 3). Auffallend sind bei vielen Sorten farblose, transparente interkostale Blattflecken, die zerstreut oder neben den Hauptadern gehäuft auftreten. Sie ähneln farblosen kleinen Narben, die in ihrem Zentrum einen braunen nekrotischen Kern haben, meist etwas ausstrahlen, oft auch unregelmäßig verzweigt miteinander zusammenhängen und dann maschenartig größere Teile des Blattes bedecken (Abb. 4 a). Nicht selten sind die Blätter an diesen Flecken durchbrochen und aufgerissen (Abb. 4 b). An älteren Pflanzen treten auch verwaschen gelbgrüne Mosaikzeichnungen auf, oder die grünen Fiedern werden diffus chlorotisch aufgehellt. Die Blüten sind teilweise mißgebildet und verdreht, der Ansatz der Hülsen bleibt schon durch die Akronekrosen und das Eintrocknen von Blütenknospen meist stark vermindert. Auffällige Hülsenfleckungen, wie sie Kotte (1939) bei der Sorte Kapitän Weddigen im Freiland antraf, konnten wir bislang im Gewächshaus an den Sorten Saxa, Genfer Markt, Doppelte holländische Prinzeß und Furore, die wiederholt bis zur Hülsenreife gehalten wurden, nicht beobachten. Daß aber andererseits Fleckungen bei Ringspotbefall möglich sind, zeigen auch die Angaben von Cheo und Zaumeyer (1952) über Bountiful-Hülsen.

Abb. 3. Fiederblatt der Buschbohnensorte Furore mit systemischer nekrotischer Blattfleckung und Deformation

Zur Orientierung über das Verhalten verschiedener Buschbohnensorten gegenüber einem starken Stamm des von Bohnen isolierten Ringspotvirus wurden 59 deutsche und ausländische Bohnensorten nach Entfaltung der Primärblätter mit dem Preßsaft kranker Samsun-Tabakpflanzen eingerieben. Alle getesteten Sorten wurden zu 100 % befallen, jedoch war die Heftigkeit der Infektion unterschiedlich. Wenn auch die einzelnen Pflanzen einer Sorte nicht alle gleich stark reagierten, so erlaubte ihr Gesamtbild doch eine vorläufige Einordnung der Sorten in fünf verschiedene Befallsgruppen (Bewertung 40 Tage nach der Infektion):

Gruppe I: Vollständige Triebnekrose, keine Regeneration durch Seitentriebe.

Wachs Flageolet mit violetten Blüten, Weiße Kochbohne, Giant stringless green pod.

Gruppe II: Nekrose des Haupttriebes, schwache Regeneration durch Seitentriebe in den Achseln der Primärblätter; Blätter mit starken, braunen oder farblosen Nekrosebildungen.

Erfurter Speck, Laux Domina, Saxa, Schreibers Longimuna, Sperlings Stella, Van Waverens Favorit, Wachs Mont d'or, Enfant de Mont-Calme, Great Northern U. I. Nr. 16, Servada, Topcrop, Wisconsin Refugee, Black dwarf negro.

a

b

Abb. 4 a, b. Farblose Blattnekrosen mit Perforationen auf Blättern der Buschbohne Genfer Markt. Bei b vergrößerter Teilausschnitt

Gruppe III: Nekrose des Haupttriebes, jedoch stärkere Regeneration durch Seitentriebe, letztere nur mit leichteren Nekrosen und mosaikartigen Chlorosen.

Eckendorfer Rotsprenkel, Gebrüder Dippes Wachs Quitlinga, Genfer Markt, Herkules, Hinrichs Riesen, Wachs Zucker Perl, Wagners Regula.

Beurre merveille du marché (zum Teil II), Bountiful, Dwarf Kidney (z. T. IV), Full measure, Idaho Refugee, Wachs Expreß, Wade (z. T. IV), Wax sure crop.

Gruppe IV: Haupttrieb durchwachsend, jedoch nur mäßige Gesamtentwicklung, z. T. Eintrocknen von Seitentriebknospen; Laub durch Nekrosebildungen geschädigt.

Breustedts Gemma, Breustedts Zeta, Doppelte holländische Prinzeß, Gebrüder Dippes Regina, Gelbe Strohbohne, Grußdorfs Algru, Haubners frühe dickfleischige Wachs, Hofmanns Wachs Aurora, Hundert für Eine, Ostfriesische Speck, Schäfers Columbus, Schäfers Universal, Schreibers Grandimuna, Schreibers Imuna, Schreibers Lange Brech, Schreibers Wachs Resista, Schreibers Wachs Saxagold, Sperlings Nova, Terras Prinsa, Wachs Goldhorn, Wachs Ideal, Zwaans Furore.

Burpees stringless green pod, Coco blanc précoce, Great Northern U. I. Nr. 31 und 123, Kentucky Wonder green pod, King of the Belgians, Lenn green pod, Michelet, Pinto 78, Red Kidney, Red mexican 34, Servus, Tendergreen, Unrivaled Wax, Wax Goldrain.

Gruppe V: Keine Nekrose des Haupttriebes; kräftige Laubentwicklung mit nur leichten Chlorosen oder Nekrosen.

Kaiser Wilhelm Riesen, Nordstern, Schäfers Universal neu, Schreibers Helia, Schreibers frühe Wachs, St. Andreas, Sultan, Wachs Rheinland. Fin de Montreux, Pinto 72, Pinto 111.

Das Ringspotvirus von Buschbohnen wurde im Verlauf der Versuche außer auf Buschbohnen auch auf einige weitere Testarten übertragen. Die Symptombilder von einigen dieser Wirtspflanzen sind im folgenden zusammengestellt:

Weißlupine (*Lupinus albus*): Die eingeriebenen Fiederblätter wiesen oft bräunliche, etwas unregelmäßige lokale Flekke auf, vielfach trat auch Blattgilbung und vorzeitige Welke hinzu. Die Stengelspitze war gestaucht, junge Blätter blieben klein und zeigten neben einer gelbgrünen Fleckung kleine braune Punkt- und Ringnekrosen; ihre Fiederchen welkten oft schon unentfaltet ab oder trockneten braun ein. Mehrfach waren die Spitzenknospen gekrümmt und starben ab. Bei durchwachsenden Trieben kam es später zu einer „Gesundung" unter Bildung fast normaler Blätter (Abb. 5). Spitzenstauchung mit Kleinblättrigkeit und grüner Mosaikzeichnung wurde auch auf infizierter gelber Lupine (*L. luteus*) und blauer Lupine (*L. angustifolius*) beobachtet.

Abb. 5. Weißlupine mit starker Infektionszone in der Mitte und gesundeter Triebspitze

Gartenwicke (*Lathyrus odoratus*): Die teilweise verkleinerten und mitunter leicht welligen oder gebeulten Fiederblätter besaßen diffuse, verwaschene heller- und dunklergrüne Bezirke und mehrfach auch farblose, kurze, transparente Strichel, die unterseits ohne Auswüchse (Enationen) blieben. Die Spitzenknospen von Seitentrieben trockneten nicht selten braun ein.

Erbse (*Pisum sativum*): Auf Erbse (Mahndorfer gelbe Viktoria) wurden die Internodien unter rötlichbrauner Stengelverfärbung verkürzt. Die Fiederblätter waren verkleinert, kraus und im Verlauf der Adern leicht chlorotisch gefärbt (Abb. 6). Auch hier trat später eine „Gesundung" des Spitzenzuwachses ein. Die Pflanzen neigten zu vorzeitiger Welke.

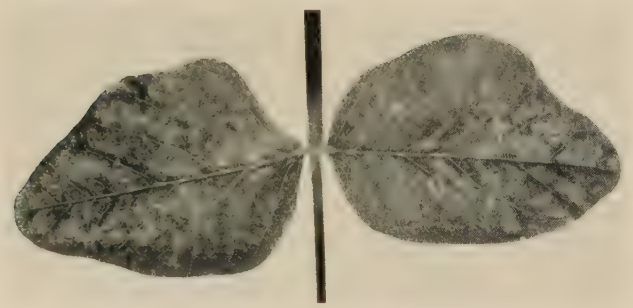


Abb. 6. Leichte chlorotische Mosaikfleckung auf Erbse

Soja (*Soja max.*): Während die Adern der eingeriebenen Blätter bräunlich verfärbt waren, traten auf jüngeren Fiedern Adernaufhellungen und gelegentlich auch ringartige chlorotische Fleckungen auf. Die Pflanzen blieben gestaucht und entwickelten einen verstärkten Seitenaustrieb, während die Blütenknospen oft eintrockneten.

Vigna sinensis: Auf der Sorte „Oeil noir" traten lokale rötlichbraune Nekrosen von etwa 1 mm Durchmesser, teilweise mit hellerem Zentrum, auf (Abb. 7). Die folgenden Fiederblätter waren klein, blasig gewölbt und hatten eine chlorotische Adernfleckung und leichtes grünes Mosaik. Der Gesamtwuchs blieb gestaucht.

Tabak (*Nicotiana tabacum* var. „Samsun"): Auf den eingeriebenen Blättern entstanden lokale graue Nekrosen von meist ringartiger Gestalt und etwa 1 bis 3 mm Durchmesser. Die folgenden Blätter zeigten systemische rundliche oder längliche Figuren aus hellgrünen konzentrischen Linien, die einzeln oder bei enger Lage gemeinsam von einem grauen nekrotischen Band umsäumt waren (Abb. 8). Später gebildete Blätter „gesundeten".

Nicotiana glutinosa: Auf den schwach deformierten Blättern traten einige ringartige chlorotische und nekrotische Zeichnungen auf, die auf später entfalteten Blättern zunehmend maskiert blieben.

Stechapfel (*Datura stramonium*): Die eingeriebenen Blätter trugen diffuse lokale Chlorosen, die Folgeblätter chlorotische konzentrische Ringflecken und nekrotische Ringe.

Weiter gelangen Infektionen auf *Nicotiana tabacum* var. „White Burley", Tomate, *Gomphrena globosa* und *Chenopodium quinoa*. Auf Ackerbohnen (*Vicia faba*) wurden keine Symptome beobachtet.

Abb. 7. Primärblatt von *Vigna sinensis* mit nekrotischen Lokalläsionen

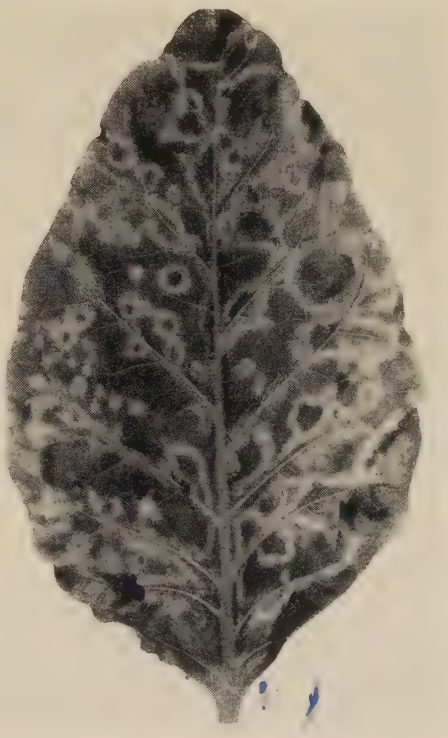


Abb. 8. Systemische Symptome auf Samsuntabak; chlorotische Ringlinien, teilweise mit nekrotischem Saum

Symptomatologisch ließen sich insbesondere auf Samsuntabak erhebliche Unterschiede in der Virulenz der Buschbohnen-Ringspot-Isolate feststellen. Dabei war bei einem „schwachen" Stamm (P 513) auf Samsun sowohl die Infektionshäufigkeit wie auch die Anzahl und Ausprägung der lokalen und systemischen Symptome geringer als bei einem anderen „stärkeren" Isolat (P 515). Auf Buschbohne und Weißlupine rief aber auch dieser auf Samsun symptomschwache Stamm P 513 kräftige Reaktionen und Spitzennekrosen hervor. Die folgenden Versuche zur Charakterisierung einiger Eigenschaften des Ringspotvirus von Buschbohnen wurden mit dem starken Stamm P 515 in der üblichen Weise durchgeführt.

Der Preßsaft kranker Tabakpflanzen war bis zu einer Verdünnung von 1 : 1000 auf Samsun-Tabakpflanzen infektiös, Verdünnungen von 1 : 10 000 und darüber besaßen keine Wirkung mehr. Die Lebensdauer in vitro betrug bei Zimmertemperatur drei Tage, von fünf Tagen ab war der Saft

nicht mehr aktiv (Preßsaft aus Samsuntabak auf Samsun als Testpflanze). Erhitzungsversuche zur Ermittlung der Inaktivierungstemperatur wurden sowohl mit Preßsaft infizierter Samsunpflanzen als auch vergleichsweise mit solchem von kranken Buschbohnen durchgeführt. Als Testpflanzen dienten Samsuntabak und Buschbohnen. Nach 10 Min. dauernder Erhitzung war der Preßsaft bei 62 ° noch deutlich, bei 64 ° C noch schwach infektiös. Bei 66 ° C (und soweit geprüft auch bei 65 ° C) wurden keine Infektionen mehr erzielt. Dabei waren die Preßsäfte aus kranken Buschbohnen bei 64 ° C etwas stärker infektiös als solche aus kranken Tabakpflanzen. Die Inaktivierungsgrenze lag mithin etwa zwischen 64 ° und 65 ° C.

Für die serologische Untersuchung des Ringspotvirus von Buschbohnen stand ein Antiserum zur Verfügung, das mit einem von bukettkranken Kartoffeln isolierten Ringspotstamm hergestellt worden war. Dieses Antiserum reagierte mit unseren Bohnen-Ringspotstämmen deutlich positiv, wobei mit Erfolg Preßsäfte von kranken Buschbohnen, Samsuntabak sowie Weißlupinen verwandt worden waren. Prüfungen des Ringspotvirus von Bohnen gegen Antiseren des Tabaknekrosevirus sowie des X-Virus und Y-Virus der Kartoffel blieben negativ. Der serologische Test, für dessen Durchführung ich Herrn Regierungsrat Dr. BERCKS auch an dieser Stelle danken möchte, weist damit auf eine Verwandtschaft des Ringspotvirus von Buschbohnen mit dem von KÖHLER (1952) untersuchten Ringspot- oder Bukettvirus von Kartoffeln (*Solanumvirus deformans*) hin.

Prämunitätsversuche deuten gleichfalls auf eine Verwandtschaft zwischen diesen beiden Ringspotviren hin. Samsunpflanzen wurden in diesen Versuchen zunächst mit dem Bohnen-Ringspotstamm P 515 eingerieben und 20 Tage später auf solchen jungen Blättern, die deutliche systemische Symptome entwickelt hatten, mit einem symptomatisch stärkeren Bukettvirusstamm von Kartoffeln („Bukett C") zusätzlich eingerieben. Durch die Anwesenheit des Bohnenstammes wurde die Entwicklung der lokalen wie auch der systemischen Symptome des nachgeimpften Bukettvirus unterdrückt. Der früher erwähnte schwächere Stamm P 513 des Buschbohnen-Ringspotvirus zeigte dagegen eine geringere, nur partielle Schutzwirkung gegen den übergeimpften Bukett C-Stamm, wohl infolge einer schwächeren Durchdringung oder geringeren Konzentration des Stammes P 513.

Literatur-Besprechung

Bisher war das Vorkommen eines Ringspotvirus auf *Phaseolus*-Bohnen nur in einem, bereits einleitend erwähnten Falle in Europa beschrieben: 1937 fand KOTTE (1939) querbandartige oder ringförmige graugrüne bis braune Flecken auf Hülsen der Stangenbohnensorte „Kapitän Weddigen" in der Nähe von Heidelberg. Der Bestand war zu einem Drittel in dieser Weise befallen; in dem folgenden Jahre wurde die Krankheit nicht wieder beobachtet. Das Virus war von KÖHLER seinerzeit untersucht und als eine dem

Tabak-Ringspotvirus (*Annulus tabaci* H.) nahestehende Form bestimmt worden. Dieser Befund war von späteren Autoren mit einem gewissen Vorbehalt aufgenommen; so hatte THUNG (1949) vermutet, daß der von KÖHLER bestimmte KOTTEsche Fund mit der in Holland vorkommenden „Stippelstreep"-Krankheit der Gartenbohne durch das Tabaknekrosevirus identisch sein könnte. Auch FRANDSEN (1952) hielt eine Bestätigung der damaligen Identifizierung für nötig.

Unser neuerlicher Nachweis eines Ringspotvirus auf Buschbohne dürfte dieser Forderung nachkommen und die KÖHLERschen Untersuchungen an Stangenbohnen aus dem Jahre 1937 bestätigen. Ein Vergleich der Buschbohnenstämme des Ringspotvirus mit dem Stippelstreep-Stamm des Tabaknekrosevirus zeigt die Verschiedenartigkeit dieser beiden Viren, von denen das Nekrosevirus bekanntlich auf Tabak nur lokale Symptome hervorruft und eine höhere Inaktivierungstemperatur (zwischen 85 ° und 90 ° C) besitzt (VAN DER WANT 1948).

Näher analysierte Funde von Viren des Tabak-Ringspot-Kreises auf Leguminosen sind in Europa außer dem besprochenen bislang nicht bekannt geworden. In Italien beobachtete CASTELLANI (1950) gelegentlich auf *Melilotus officinalis* Symptome, die er dem Tabak-Ringspotvirus zuschreibt. Häufiger ist das Vorkommen des Tabak-Ringspotvirus auf Leguminosen in Nordamerika beobachtet worden. An Hand künstlicher Gewächshausinfektionen untersuchten PIERCE (1934) sowie ZAUMEYER und WADE (1935) die Reaktion insbesondere von Buschbohnen und STUBBS (1937) das Verhalten von Erbsen gegenüber dem Tabak-Ringspotvirus. Daneben wurde dieses Virus mehrfach auch auf Leguminosen im Freiland angetroffen, so von HENDERSON und WINGARD auf *Melilotus officinalis* (1931), von HENDERSON (1934) auf *Melilotus*, insbesondere *M. alba*, und von COOPER (1949) auf *Cyamopsis psoraloides* DC. Seit 1944 wurden in Nordamerika auch wiederholt Funde auf Gartenbohnen gemacht. LE BEAU (1947) beschreibt aus Mississippi eine schwere systemische Nekrose an Buschbohnen durch einen Tabak-Ringspot-Stamm. Einen weiteren Stamm dieses Virus isolierten CHEO und ZAUMEYER (1952) im Herbst 1951 von stark gefleckten Hülsen der Buschbohnensorte Bountiful in Virginia, und einige Jahre vorher von Bohnenproben aus Delaware. Alle geprüften Bohnensorten erwiesen sich auch dort als anfällig. Hinsichtlich des Wirtspflanzenkreises besteht eine gute Übereinstimmung zwischen dem von CHEO und ZAUMEYER beschriebenen und unserem Virus. Ein besonderes Krankheitsbild ruft das Tabak-Ringspotvirus auf Sojabohnen in den USA hervor; die wesentlichen Merkmale dieser „bud-blight"-Erkrankung (ALLINGTON 1946) sind eine Stauchung der Pflanzen und Neigung zu Knospennekrosen. Bemerkenswert ist, daß nach DESJARDINS, LATTERELL und MITCHELL (1954) die „bud-blight"-Virose zu 54—78 % mit dem Samen kranker Sojapflanzen der Sorte „Lincoln" übertragen wurde. Ob das gleiche bei *Phaseolus*-Bohnen möglich ist, wird noch geprüft. Bisher haben unsere Versuche mit Samen von ringspotkranken Buschbohnen keine positiven Ergebnisse gebracht.

Seit schließlich die Gladiole verbreitet als Träger und Infektionsquelle des Gelben Bohnenmosaikvirus (Phaseolusvirus 2 K. M. Smith) untersucht wurde, ist auch das Tabak-Ringspotvirus ebenfalls auf dieser Wirtspflanze angetroffen, wie BRIDGMON und WALKER (1952) und BERKELEY (1953) nachwiesen.

Auf Ackerbohne (*Vicia faba*) ist das Tabak-Ringspotvirus nicht nur von verschiedenen Wirtsarten her künstlich übertragbar, sondern STUBBS (1947) weist ein nahestehendes Virus auch als Ursache einer schweren Gefäßnekrose und Welke in *Vicia faba*-Kulturen in Viktoria (Australien) nach. Dieser Stamm unterschied sich allerdings von den meisten hier genannten dadurch, daß er nicht auf Gartenbohnen übertragbar war.

Die folgende Tabelle 1 bringt nach verschiedenen Autoren vergleichsweise einige Eigenschaften verschiedener Ringspot-Isolate, besonders von Leguminosen und Gladiolen.

Tabelle 1

Isoliert von	Inaktivierungstemperatur °C	Verdünnungsendpunkt	Lebensdauer in vitro	Buschbohne	Erbse	Ackerbohne	Autor
Phaseolus vulgaris	65—70°	1 : 10 000	15 d	+	+	+	CHEO und ZAUMEYER (1952)
Phaseolus vulgaris	68°	...	...	+	+	...	LE BEAU (1947)
Phaseolus vulgaris	64—65°	1 : 1000	3—5 d	+	+	—	Eigene Untersuchung
Tabak	64—66°	1 : 1000	8—10 d[1])	+	—	+	PIERCE (1934)
Vicia faba (Vascular wilt disease)	58—60°	1 : 10 000	2—3 d	—	+	+	STUBBS (1947)
Gladiole							
Stamm A, B	61°	...	...	+	+	...	BERKELEY (1953)
Stamm C	57°[2])	...	...	+ (schwach)	+	...	
Gladiole	65—70°	1 : 10 000	8 d	+	+	...	BRIDGMON und WALKER (1952)
Kartoffel	60—65°	...	...	+	...	...	KÖHLER (1952)

[1]) Auf Buschbohne geprüft; mit *Phaseolus lunatus* als Testpflanze: 5—7 d.
[2]) Vergleichsstamm von Tabak: 66° C (BERKELEY 1953).

Die Zusammenstellung zeigt, daß die für unseren Buschbohnenstamm gefundenen Werte sich den Ergebnissen der Literatur gut einfügen. Unsere untersuchten Virus-Isolate von Buschbohnen sind daher offenbar zu der Ringspot-Gruppe, insbesondere dem schweren Kartoffel-Ringspot- oder Bukettvirus zu stellen. Dieses Virus ist nach KÖHLER (1954) wahrscheinlich als Unterart des aus Nordamerika bekannten Tabak-Ringspotvirus (*Annulus tabaci* Holmes, Nicotianavirus 12 [Fromme] K. M. Smith) aufzufassen.

Die Verbreitung und Häufigkeit der Bohnennekrose durch das Ringspotvirus ist in unserem Gebiet noch nicht zu beurteilen, zumal auch die Sym-

ptome im Freiland auf manchen Sorten von anderen Krankheitsbildern nicht immer leicht zu unterscheiden sind. Über den Ausbreitungs- und Übertragungsweg lassen sich ebenfalls noch keine Angaben machen, da die tierischen Vektoren des Bohnen-Ringspot- wie auch des Bukettvirus in Deutschland bislang noch nicht gefunden sind.

Die starken Nekrosen und Schädigungen, die das Ringfleckenvirus auf Bohnen hervorzurufen vermag, und andererseits die Verwandtschaft mit dem Kartoffel-Ringspotvirus als Erreger der Bukettkrankheit machen es notwendig, künftig auch auf das Auftreten des Ringspotvirus auf der *Phaseolus*-Bohne zu achten.

Zusammenfassung

Auf Buschbohnen wurde in Nordwestdeutschland eine mit Blattnekrosen einhergehende Virose angetroffen, als deren Erreger ein Ringspotvirus bestimmt wurde. Dieses Virus ließ sich auf alle 59 geprüften Bohnensorten übertragen und rief darauf starke Nekrosen, Deformationen und mosaikähnliche Chlorosen der Blätter hervor. Das Virus läßt sich mit dem Preßsaft auf Tabak (*Nicotiana tabacum*), *Nicotiana glutinosa, Datura stramonium, Chenopodium quinoa,* Tomate, sowie zahlreiche Leguminosen, wie Erbse, Gartenwicke (*Lathyrus odoratus*), Soja, Lupinen (*Lupinus albus, L. luteus* und *L. angustifolius*) und *Vigna sinensis,* übertragen. Auf den meisten Wirtsarten folgte einem akuten Infektionsstadium später eine „Gesundung" des Neuzuwachses. Die Inaktivierungstemperatur lag zwischen 64 ° und 65 ° C, die Verdünnungsgrenze zwischen 1 : 1000 und 1 : 10 000; die Lebensdauer in vitro betrug drei Tage; nach fünf Tagen war der Preßsaft nicht mehr infektiös. Von dem Ringfleckenvirus der Bohne wurden eine stärkere und eine schwächere Variante isoliert.

Der serologische Test sowie Prämunitätsversuche zeigten eine enge Verwandtschaft des von Buschbohnen isolierten Ringfleckenvirus mit dem schweren Kartoffel-Ringspot- oder Bukettvirus (*Solanumvirus deformans* Köhler).

Literaturverzeichnis

Allington, W. B., 1946: Bud blight of soybean caused by tobacco ring-spot virus. Phytopathology 36, 319—322.

Berkeley, G. H., 1953: Some virues affecting *Gladiolus.* Phytopathology 43, 112—115.

Bridgmon, G. H. and Walker, J. C., 1952: *Gladiolus* as a virus reservoir. Phytopathology 42, 65—70.

Castellani, E., 1950: Su alcune virosi delle Leguminose foraggere osservate in provincia di Firenze. Notiz. Malatt. Piante, 1—8.

Cheo, P. C. and Zaumeyer, W. J., 1952: A new strain of tobacco ring-spot virus isolated from bean. Plant Dis. Rptr. 36, 459—465.

Cooper, W. E., 1949: Top necrosis, a virus disease of guar. Phytopathology 39, 347—358.

Desjardins, P. R., Latterell, R. L. and Mitchell, J. E., 1954: Seed transmission of tobacco ring-spot virus in Lincoln variety of Soybean. Phytopathology 44, 86 (Phyt. Not.).

FRANDSEN, N. O., 1952: Untersuchungen zur Virusresistenzzüchtung bei *Phaseolus vulgaris* L. I. Phytopathologische Untersuchungen. Z. f. Pflanzenzüchtung **31**, 381—420.

HENDERSON, R. A. and WINGARD, S. A., 1931: Further studies on tobacco ring-spot in Virginia. J. Agr. Res. **43**, 191—207.

— —, 1934: Occurence of tobacco ring-spot-like viruses in sweet clover. Phytopathology **24**, 248—256.

KÖHLER, E., 1952: Die Bukettkrankheit, eine Viruskrankheit der Kartoffel. Phytopath. Z. **19**, 284—294.

— — und KLINKOWSKI, M., 1954: „Viruskrankheiten" in: Handbuch der Pflanzenkrankheiten v. P. Sorauer; Bd. II 6. Aufl. Paul Parey, Berlin und Hamburg.

KOTTE, W., 1939: Beobachtungen über neuere Viruskrankheiten an Tomate und Bohne. Mitt. d. Biol. Reichsanst. f. Land- u. Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem, Nr. **59**, 61—64.

LE BEAU, F. J., 1947: A virus-induced top necrosis in bean. Phytopathology **37**, 434.

PIERCE, W. H., 1934: Viroses of the bean. Phytopathology **24**, 87—115.

QUANTZ, L., 1953: Untersuchungen über ein samenübertragbares Mosaikvirus der Ackerbohne (*Vicia faba*). Phytopath. Z. **20**, 421—448.

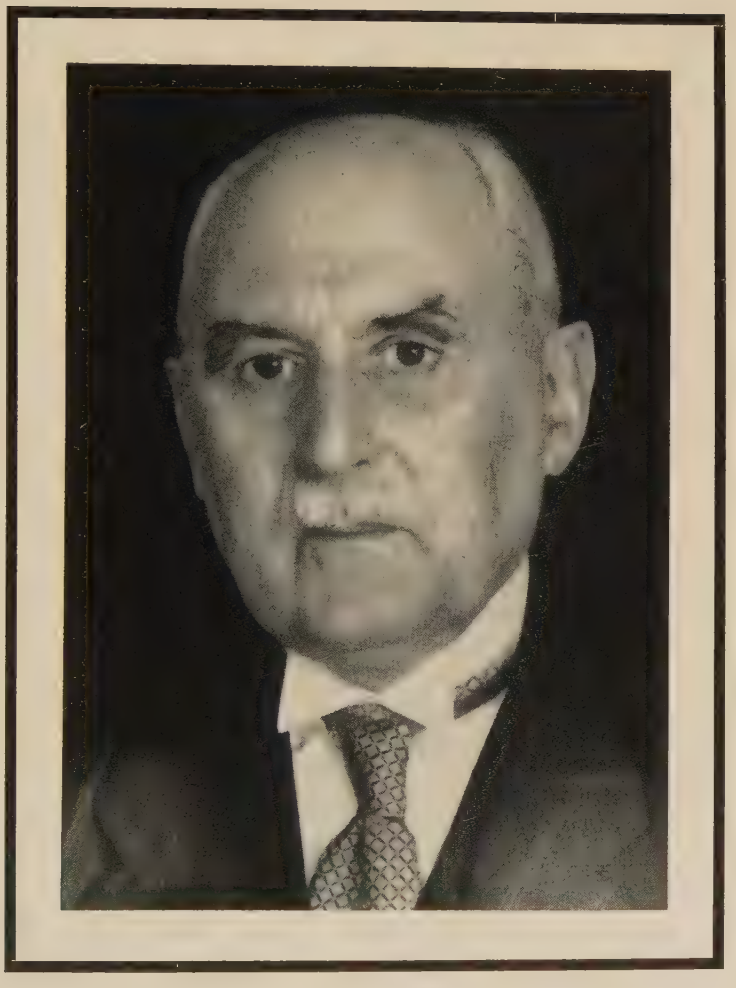
STUBBS, L. L., 1947: A destructive vascular wilt virus of Broad Bean (*Vicia faba* L.) in Victoria. J. Dep. Agric. Vict. **XIV**, 323—332.

STUBBS, M. W., 1937: Certain viroses of the garden pea, *Pisum sativum*. Phytopathology **27**, 242—266.

THUNG, T. H., 1949: Grondbeginselen der plantenvirologie. Meded. Landbouwhogesch. **49**, 1—156.

WANT, J. P. H. van der, 1948: Het Stippelstreep van de boon (*Phaseolus vulgaris*) een ziekte veroorzaakt door een virus, dat in der grond overblijft. Tijdschr. over Plantenziekten **54**, 85—90.

ZAUMEYER, W. J. and WADE, B. L., 1935: The relationship of certain legume mosaics to bean. J. Agr. Res. (U. S.) **51**, 715—749.



GUSTAV GASSNER †

Am 5. Februar 1955 starb nach schwerer Krankheit, kurz nach seinem 74. Geburtstage, der langjährige Herausgeber dieser Zeitschrift, Professor Dr. phil. Dr. rer. nat. h. c. GUSTAV GASSNER. Damit verlieren die phytopathologische Wissenschaft und darüber hinaus die angewandte Botanik einen ihrer erfolgreichsten und schöpferischsten Vertreter.

Am 17. Januar 1881 in Berlin geboren, besuchte GASSNER das Friedrich-Gymnasium in Berlin, das er 1899 nach bestandener Reifeprüfung verließ,

um anschließend in Halle und Berlin Naturwissenschaften zu studieren. Er beendete sein Berliner Studium 1905 mit der Promotion mit dem Prädikat „Magna cum laude" und trat nach kurzer Assistententätigkeit am Botanischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule in Berlin 1906 als wissenschaftlicher Hilfsarbeiter in die Kaiserliche Biologische Anstalt für Land- und Forstwirtschaft ein. 1907 folgte er einem Ruf an die Landwirtschaftliche Hochschule in Montevideo (Uruguay), wo er bis 1910 als Professor für Botanik und Phytopathologie wirkte. Nach Deutschland zurückgekehrt übernahm er zunächst eine Stelle als wissenschaftlicher Hilfsarbeiter an den Botanischen Staatsinstituten in Hamburg und habilitierte sich 1911 an der Universität Kiel. In den folgenden Jahren (1912—1918) war er an der Universität Rostock tätig und wurde dort 1915 zum a. o. Professor ernannt.

Im Jahre 1918 erfolgte GASSNERS Berufung nach Braunschweig als ordentlicher Professor für Botanik und als Direktor des Botanischen Gartens der Technischen Hochschule. Hier folgte eine 15 Jahre währende Periode reichen Schaffens, in der der Neubau des Botanischen Instituts durchgeführt und das „Institut für landwirtschaftliche Botanik" in Braunschweig-Gliesmarode errichtet wurde, das später als Zweigstelle in die Biologische Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft eingegliedert wurde und das heute die Zentrale der Biologischen Bundesanstalt bildet. Als Rektor der Technischen Hochschule geriet GASSNER 1932/33 in scharfen Gegensatz zu der damaligen nationalsozialistischen Braunschweiger Regierung. Er wurde entlassen, und seine vorgesehene Berufung zum Präsidenten der Biologischen Reichsanstalt wurde nicht weiter verfolgt. 1934 ging er ins Exil und wirkte bis 1939 als Sachverständiger des Türkischen Landwirtschaftsministeriums und Direktor des Türkischen Pflanzenschutzdienstes in Ankara. In die Heimat zurückgekehrt finden wir ihn während des zweiten Weltkrieges bei den Chemischen Fabriken der Fahlberg-List A. G. in Magdeburg als Leiter des dortigen Biologischen Forschungsinstituts, das er nach eigenen Plänen und Gedanken neu aufgebaut hat.

Nach dem Zusammenbruch kehrte GASSNER mit ungebrochener Vitalität und voller Schaffensdrang nach Braunschweig zurück, um hier, zum ordentlichen Professor wiederernannt, als erster Nachkriegsrektor den Wiederaufbau der stark zerstörten Technischen Hochschule tatkräftig anzupacken. Gleichzeitig unternahm er es, die in der britischen Besatzungszone liegenden oder während des Krieges dorthin ausgelagerten Institute und Dienststellen der ehemaligen Biologischen Reichsanstalt unter seiner Leitung zu einer Biologischen Zentralanstalt zusammenzufassen, zu deren Präsident er 1947 bestellt wurde und die in den folgenden Jahren ihre Tätigkeit auf das vereinigte Wirtschaftsgebiet ausdehnen konnte. Mit sicherem Blick hatte er die Erfordernisse des Pflanzenschutzes und der Pflanzenschutzforschung erkannt und hatte aus den anfangs zusammenhanglosen Resten der ehemaligen Biologischen Reichsanstalt in kürzester Frist das wohlgefügte Fundament der heutigen Biologischen Bundesanstalt geschaffen.

Es ist erstaunlich, mit welcher Elastizität und mit welchem nie erlahmenden Arbeitseifer sich Gustav Gassner in den schweren Nachkriegsjahren auf allen Sparten seines Fachgebietes vorbehaltlos für den Wiederaufbau zur Verfügung stellte, und es nimmt daher auch nicht Wunder, daß ihm zahlreiche Ämter und Ehrenämter angetragen wurden, die neben der Würde nicht selten eine recht beachtliche Bürde mit sich brachten. So finden wir ihn in den Jahren nach 1946 als Mitglied des Landwirtschaftlichen Forschungsrates, als Mitglied des Deutschen Forschungsrates, als kommissarischen Präsidenten der Forschungsanstalt für Landwirtschaft in Braunschweig-Völkenrode, später als Kuratoriumsmitglied dieser Forschungsanstalt, als Mitglied des Kuratoriums des Max-Planck-Instituts für Züchtungsforschung, als Obmann der Fachgruppe Botanik der Deutschen Gesellschaft der Landbauwissenschaften, als Mitglied des Gesamtausschusses für landwirtschaftliche Forschung, Lehre und Beratung, als Gründungsmitglied des Kuratoriums für Technik in der Landwirtschaft, als Vorsitzenden des Ausschusses Pflanzenschutz der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft und als Vorsitzenden der Vereinigung für angewandte Botanik.

Es wäre ein aussichtsloses Unterfangen, wollte man versuchen, auf beschränktem Raum den wissenschaftlichen Leistungen eines Mannes wie Gustav Gassner auch nur annähernd gerecht zu werden. Für die Breite und Vielseitigkeit seines Wirkens mögen die Titel seiner über 200 wissenschaftlichen Veröffentlichungen selbst sprechen, deren wichtigste im Anhang zusammengestellt sind. Es seien hier lediglich die großen Probleme angedeutet, die ihn während seines ganzen Lebens bis ins hohe Alter immer wieder beschäftigt haben und zu denen er immer wieder entscheidende Beiträge liefern konnte.

Gustav Gassner war zeit seines Lebens ein ausgesprochener Vertreter der angewandten Botanik. Er hat sich von Anfang an Forschungsarbeiten an unseren Kulturpflanzen, insbesondere den Getreidearten zugewandt. Bereits im Jahre 1907, am Beginn seiner Laufbahn, konnte er zusammen mit O. Appel eine Apparatur entwickeln, die eine exakte Durchführung der Heißwasserbeize zur Flugbrandbekämpfung an Weizen und Gerste gestattete. Jedoch die Mängel, die diesem Beizverfahren bei der Anwendung in der großen landwirtschaftlichen Praxis anhafteten, ließen ihn nicht ruhen. In systematisch und folgerichtig fortgeführten grundsätzlichen Forschungsarbeiten über die Wirkung dieser Wasserbeizung auf Samenkorn und Krankheitserreger gelangte er dann zur Warmwasserbeize. Auch in den letzten Jahren seines Schaffens beschäftigten ihn diese Fragen erneut besonders intensiv. Er erarbeitete ein Warmbenetzungsverfahren, dessen endgültige Praxisreife er allerdings nicht mehr erleben sollte.

Mit derselben Konsequenz widmete sich Gassner den Problemen der Steinbrandbekämpfung auf chemischem Wege. Auch hier lieferte er durch folgerichtige Weiterentwicklung und Verbesserung der Versuchsmethodik die Grundlagen, die eine Gesamtschau der Wirkung chemischer Substanzen gegenüber den komplizierten Wechselbeziehungen zwischen Saatkorn, Brandsporen und umgebendem Erdreich gestatteten. Es gelang, den von

Ehrlich eingeführten chemotherapeutischen Index in etwas abgewandelter Form für die Prüfung von Beizmitteln nutzbar zu machen. Gassner war es auch, der die grundlegenden und entscheidenden Forschungsarbeiten für die praxisreife Entwicklung des Kurznaßbeizverfahrens beisteuerte. Darüber hinaus befaßte er sich ebenso erfolgreich mit der Epidemiologie und Biologie der Brandpilze, und es ist wohl kein Zufall, daß er im hohen Alter sich wieder diesem Lieblingsthema zuwandte. Noch im Jahre 1953 unternahm er mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft eine Forschungsreise in das Hochland von Anatolien, um dort der Frage des Wildvorkommens des Zwerg- oder Kurzsteinbrandes nachzugehen. Es gelang ihm, wertvolles Material einzutragen, und die Veröffentlichungen darüber sind die letzten, die wir aus seiner Feder besitzen.

Eng gekoppelt mit den Arbeiten über die Brandkrankheiten der Getreide, die, wie wir gesehen haben, am Anfang und Ende des Gassnerschen Wirkens stehen, sind seine zahlreichen Untersuchungen zum großen Themenkreis der Keimungsphysiologie. Fragen der Licht- und Dunkelkeimung, der Nachreifungsvorgänge, der Brechung der Keimruhe, der Keimungsbedingungen hartschaliger Leguminosen usw. werden in bedeutsamen Veröffentlichungen behandelt. Vor allem aber sind es seine in Südamerika durchgeführten Arbeiten über Anbaubedingungen und Entwicklungsrhythmus der Getreidearten, die wertvolle, auch praktisch wichtige Ergebnisse lieferten. Er erkannte die Bedeutung des Durchlaufens einer Kälteperiode für den Entwicklungsablauf unserer Getreidearten und konnte bereits vor über 40 Jahren nachweisen, daß es möglich ist, durch kurzfristige Kälteeinwirkung im frühesten Entwicklungsstadium eine Keimumstimmung zu erzielen, ein Verfahren, das in Frankreich als „Vernalisation" und in Rußland später als „Jarowisation" bezeichnet wurde. In diesem Zusammenhang müssen auch Gassners spätere Arbeiten über das Problem der Winterhärte erwähnt werden, die ihn veranlaßten, eine „Denkschrift über die Errichtung einer Prüfungsstelle unserer Kulturpflanzen auf Frostwiderstandsfähigkeit" zu verfassen, um die Ergebnisse seiner Forschungen der Pflanzenzüchtung nutzbar zu machen.

Das dritte große Interessengebiet Gassners stellen die Rostpilze dar. Schon frühzeitig wandte er sich mit breit angelegten Arbeiten der Erforschung der Rostkrankheiten der Getreidearten zu, und hier war es ihm vergönnt, wahre Pionierarbeit zu leisten. Mit der ihm eigenen Zielstrebigkeit löste er gemeinsam mit einer Reihe von Schülern und Mitarbeitern Teilproblem auf Teilproblem, um dann die Ergebnisse dieser Arbeiten mosaikartig zu einer Gesamtschau zu verbinden. Dabei vermied er es von vornherein, allzusehr vom rein mykologischen Standpunkt an die Dinge heranzugehen. In den Mittelpunkt seiner Betrachtungsweise stellte er von Grund auf die Wechselwirkungen zwischen der Biologie des Parasiten und der Physiologie der Wirtspflanze. Auf diese Weise finden sich auf dem Gebiete der Getreiderostforschung nur wenige Probleme, die von Gassner nicht in Angriff genommen wurden und zu denen er nicht Wesentliches zu sagen gehabt hätte. Es entspricht seinem weitschauenden Blick für die

Bedürfnisse der pflanzenbaulichen Praxis, daß er sich nicht damit begnügte, neue wissenschaftliche Erkenntnisse zu vermitteln und solide experimentell zu untermauern, er hat auch sehr bald die Wege gewiesen, wie die Ergebnisse der modernen Rostforschung für die Resistenzzüchtung nutzbar gemacht werden können.

Wenn wir hier die drei großen Forschungsgebiete, die mit den Stichworten Brandkrankheiten, Rostkrankheiten und Keimungsphysiologie umrissen werden können und die das Schaffen GASSNERS wie ein roter Faden durchziehen, kurz skizziert haben, so müssen wir uns darüber klar sein, daß damit der Umfang seiner Arbeiten noch nicht erschöpft ist. Es sei nur erinnert an seine im ersten Weltkriege durchgeführten Untersuchungen auf dem Gebiete der medizinischen Bakteriologie, an seine Ausarbeitung eines Frühtreibverfahrens mit Blausäure, an seine Beiträge zur Elektrokultur, an seine dendroklimatologischen Untersuchungen, an die Bearbeitung des Citrus-Sterbens und zahlreicher Fragen des allgemeinen und speziellen Pflanzenschutzes. Neben Beiträgen zu verschiedenen wissenschaftlichen Handbüchern muß endlich noch sein Lehrbuch über die mikroskopische Untersuchung pflanzlicher Nahrungs- und Genußmittel genannt werden, das zu den Standardwerken der angewandten Botanik gehört.

Das Leben GUSTAV GASSNERS war bis ins hohe Alter von einem rastlosen Schaffensdrang erfüllt, und reiche Erfolge waren ihm beschieden. Wenn er auch während der Zeit seiner Amtsenthebung manche Bitternis hinnehmen mußte, so ist ihm doch auch hohe Anerkennung zuteil geworden. So war er Ehrensenator der Technischen Hochschule Braunschweig, Mitglied der Leopoldina zu Halle, Mitglied der Kgl. Schwedischen Akademie der Landwirtschaft in Stockholm und Ehrenprofessor der Universität Montevideo. An seinem 70. Geburtstage wurde ihm von der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Göttingen in Anerkennung seiner hervorragenden wissenschaftlichen Verdienste die Würde eines Dr. rer. nat. h. c. verliehen, und im November 1952 ehrte ihn der Herr Bundespräsident durch Verleihung des großen Verdienstkreuzes des Verdienstordens der Bundesrepublik für seine besonderen Leistungen auf dem Gebiete des Pflanzenschutzes zum Wohle der Landwirtschaft.

Der Tod von GUSTAV GASSNER hat in der Phytopathologie und in der angewandten Botanik eine Lücke aufgerissen, die nur schwer zu schließen sein wird. Er war ein gottbegnadeter Forscher, ausgestattet mit reichen Gaben. Er hat sie unermüdlich genutzt im selbstlosen Dienste der Wissenschaft. Ein allezeit ehrendes Andenken ist ihm gewiß.

H. RICHTER, Berlin-Dahlem

Veröffentlichungen von Gustav Gassner

1. Der Galvanotropismus der Wurzeln. Bot. Z. 64, 1906, 149—222.
2. Der Brand des Hafers und seine Bekämpfung. Flugblatt Nr. 38, 1906, Kaiserl. Biol. Anst. Land- u. Forstw. (zus. m. O. APPEL).
3. Der derzeitige Stand unserer Kenntnisse von den Flugbrandarten des Getreides und

Ein neuer Apparat zur einfachen Durchführung der Heißwasserbehandlung des Saatgutes. Mitt. Kais. Biol. Anst. Land- u. Forstw. H. 3, 1907 (zus. m. O. Appel), S. 1—20.
4. Zur Frage der Elektrokultur. Ber. D. Bot. Ges. **25**, 1907, 26—38.
5. Estudio sobre los hongos de la República O. del Uruguay. Revista Agron **2**, 1908, 104—131.
6. Proyecto del Jardín Botánico para la Seccíon Agronomía de la Universidad de Montevideo. Revista Agron. **3**, 1908, 167—177 (zus. m. E. Petzke).
7. Sobre la necesidad de examinar las semillas antes de sembrarlas. Revista Asoc. Rural Uruguay **37**, 1908, 202—205.
8. La encrespadura del duraznero. Ibid. **37**, 1908, 546—551.
9. Un ejemplo interesante de replantacíon de árboles para fijar y utilizar dunas. Ibid. **37**, 1908, 643—647.
10. Algunos análisis de semillas. Revista Agron. **4**, 1909, 107—115.
11. Algunas observaciones sobre el polvillo de los porotos (Uromyces appendiculatus). Ibid. **4**, 1909, 125—129.
12. Experimentos con el tífus de los ratones. Ibid. **4**, 1909, 181—183.
13. Relaciones de la Botánica con las ciencias generales y agronómicas. Ibid. **5**, 1909, 57—73.
14. Algunos análisis de semillas (continuación). Ibid. **5**, 1909, 95—105.
15. La importancia y necesidad del control de semillas para el agrónomo. 8. Congr. Rural ann. Montevideo **1909**, 26—36.
16. Tratamiento de las semillas para preservarlas contra las enfermedades del carbón. Agros **1**, 1909, 21—23.
17. Las enfermedades del carbón de los cereales y los métodos para combatirlas según las investigaciones más recientes. Ibid. **1**, 1909, 43—46.
18. Heuschreckeneinfälle und ihre Bekämpfung in Uruguay. Z. f. Süd- u. Mittelamerika **1909**, H. 2, 29—33.
19. Pflanzenphysiologische Fragen der Elektrokultur. Mitt. DLG **1909** 5—7.
20. Über Keimungsbedingungen einiger südamerikanischer Gramineensamen. Ber. D. Bot. Ges. **28**, 1910, 350—364.
21. Über Keimungsbedingungen einiger südamerikanischer Gramineensamen. 2. Mitt. Ibid. **28**, 1910, 504—512.
22. Über *Solanum Commersonii* und *Solanum „Commersonii violet"* in Uruguay. Landw. Jahrb. **39**, 1910, 1011—1020.
23. Beobachtungen und Versuche über den Anbau und die Entwicklung von Getreidepflanzen im subtropischen Klima. Jahresber. Ver. f. Angew. Bot. **8**, 1910, 95—163.
24. Über Elektrokultur. Jahresber. Gartenbauverein Hamburg **1911**, 14 S.
25. Vorläufige Mitteilung neuerer Ergebnisse meiner Keimungsuntersuchungen mit *Chloris ciliata*. Ber. D. Bot. Ges. **29**, 1911, 708—722.
26. Untersuchungen über die Wirkung des Lichtes und des Temperaturwechsels auf die Keimung von *Chloris ciliata*. Jahrb. Hamburger Wiss. Anst. **29**, 1911, 1—121.
27. Beiträge zur Frage der Frosthärte der Getreidepflanzen. Ber. D. Bot. Ges. **31**, 1913, 507—516 (zus. m. C. Grimme).
28. Über Anpassungen der Getreidepflanzen an klimatische Verhältnisse und deren Bedeutung für die Entwicklung des Getreides. Landw. Ann. Mecklbg. Patriot. Vereins **52**, 1913, 101—103 und 109—112.
29. Die Vegetation von Uruguay, I u. II. Karsten-Schenk, Vegetationsbilder, XI. Reihe **1913**.
30. Altes und Neues zur Frage des Zusammenwirkens von Licht und Temperatur bei der Keimung lichtempfindlicher Samen. Ber. D. Bot. Ges. **33**, 1915, 203—217.
31. Einige neue Fälle von keimungsauslösender Wirkung der Stickstoffverbindungen auf lichtempfindliche Samen. Ibid. **33**, 1915, 217—232.
32. Über die keimungsauslösende Wirkung der Stickstoffsalze auf lichtempfindliche Samen. Jahrb. Wiss. Bot. **55**, 1915, 259—342.

33. Die Teleutosporenbildung der Getreiderostpilze und ihre Bedingungen. Z. f. Bot. 7, 1915, 65—120.
34. Beiträge zur Frage der Lichtkeimung. Ibid. 7, 1915, 609—661.
35. Die Getreideroste und ihr Auftreten im subtropischen östlichen Südamerika. Cbl. Bakt. II, 44, 1915, 305—381.
36. Untersuchungen über die Abhängigkeit des Auftretens der Getreideroste vom Entwicklungszustand der Nährpflanze und von äußeren Faktoren. Ibid. 44, 1915, 512—617.
37. Über einen Fall von Weißblättrigkeit durch Kältewirkung. Ber. D. Bot. Ges. 33, 1915, 479—486.
38. Fragmentarisch gebliebene Arbeiten gefallener Kriegsteilnehmer aus dem Botanischen Institut der Universität Rostock. Ber. Naturf. Ges. Rostock 1915, 57—62.
39. Beiträge zur Frage der Überwinterung und Verbreitung der Getreideroste im subtropischen Klima. Z. Pflkrankh. 26, 1916, 329—374.
40. Über das Wachstum von Coli-Bakterien auf Lackmusmannitagar. Cbl. Bakt. I, 79, 1917, 303—307.
41. Hefewassernährböden und ihre Bewertung. Ibid. 79, 1917, 308—317.
42. Metachromgelb als Hemmungsmittel für Kokken und Sporenbildner und seine Verwendbarkeit für Nährböden zur Typhus-Ruhr-Diagnose. Ibid. 80, 1917, 120—127.
43. Ein neuer Dreifarbennährboden zur Typhus-Ruhr-Diagnose. Ibid 80, 1917, 219—222.
44. Der Metachromgelb-Wasserblau-Dreifarbennährboden für Typhus-Ruhr-Untersuchungen. Münch. Mediz. Wochenschr. 1917, Nr. 15, 505—506.
45. Ein Erneuerungsverfahren für gebrauchten Metachromgelb-Wasserblau-Dreifarbennährboden. Cbl. Bakt. I. 80, 1917, 253—258 (zus. m. J. Zeissler).
46. Asparagin als Stickstoffquelle für Typhusbakterien. Ibid. 80, 1917, 258—264.
47. Meningokokkenuntersuchungen anläßlich der Schweriner Genickstarreepidemie des Winters 1915/16. Z. Hygiene u. Infekt.-Krankh. 84, 1917, 279—293.
48. Die Diagnose des Meningococcus Weichselbaum und ihre Vereinheitlichung. Ibid. 84, 1917, 294—316 (zus. m. J. Zeissler).
49. Einige Versuche über Drigalski-Agar. Cbl. Bakt. I. 81, 1918, 353—359.
50. Neuere Untersuchungen über Metachromgelbnährböden, gleichzeitig ein Beitrag zur Theorie der Gram-Färbung. Ibid. 81, 1918, 477—492.
51. Über die praktische Verwendbarkeit des Metachromgelbs und metachromgelb-ähnlicher Stoffe für differentialdiagnostische und andere Nährböden. D. Med. Wochenschr. 1918, Nr. 32.
52. Über Gram-elektive Züchtung. Ibid. 1918, Nr. 41.
53. Beiträge zur physiologischen Charakteristik sommer- und winterannueller Gewächse, insbesondere der Getreidepflanzen. Z. Bot. 10, 1918, 417—480.
54. Eine Bemerkung zum Kindborgschen Säurefuchsinagar. Cbl. Bakt. I. 83, 1919, 301—304.
55. Untersuchungen über die Sortenempfänglichkeit von Getreidepflanzen gegen Rostpilze. Ibid. II. 49, 1919, 185—243.
56. Über einen eigenartigen Uromyces auf *Passiflora foetida* L. Ber. D. Bot. Ges. 40, 1922, 64—68.
57. Über Rhythmik und Periodizität in der Entwicklung der Pflanze. Naturw. Umschau d. Chem. Ztg. 1922.
58. Biologische Grundlagen der Prüfung von Beizmitteln zur Steinbrandbekämpfung. Arb. Biol. Reichsanst. 11, 1923, 339—372.
59. Beiträge zur Frage der chemotherapeutischen Bewertung von Quecksilberverbindungen als Beizmittel gegen Weizensteinbrand. Ibid. 11, 1923, 373—385 (zus. m. I. Esdorn).
60. Über die Untersuchungen von J. Zeidler zur Frage des Galvanotropismus der Wurzeln. Ber. D. Bot. Ges. 41, 1923, (17)—(19).
61. Über die Bewertung von Beizmitteln. Angew. Bot. 6, 1924, 1—16.
62. Die Verwendung quecksilberhaltiger Beizmittel zur Bekämpfung des Haferflugbrandes. Ibid. 6, 1924, 463—477.

63. Über die Bedeutung des Nachreifezustandes für den Keimungsverlauf der Getreidesamen. Mitt. DLG **39**, **1924**, 209—211.
64. Über die Dosierung von Beizmitteln. Ibid. **39**, **1924**, 385—388.
65. Blausäurebehandlung als Stimulationsmittel im praktischen Pflanzenbau. Angew. Bot. **7**, **1925**, 74—79.
66. Über die Abhängigkeit des Steinbrandauftretens von der Bodenbeschaffenheit. Ibid. 7, **1925**, 80—87.
67. Ein einfacher Nachweis der stimulierenden Wirkung von Giften und anderen Stoffen auf die Keimung und Entwicklung von Brandsporen. Zellstim. Forschg. **1**, **1925**, 467—470.
68. Frühtreibversuche mit Blausäure. Ber. D. Bot. Ges. **43**, **1925**, 132—137.
69. Die Verwendung von Quecksilberbeizmitteln in der wiederholten Tauchbeize (Kettenbeize). Z. Pflkrankh. **35**, **1925**, 1—15.
70. Versuche über die Bekämpfung von Apfelsinenschädlingen durch Blausäurebegasungen. Ibid. **35**, **1925**, 97—111.
71. Pflanzenschutz und Schädlingsbekämpfung. Technik i. d. Landw. **3**, **1925**, 474—558.
72. Der Einfluß des Klimas auf die Erntebeschaffenheit des Getreides. Mitt. DLG **40**, **1925**, 950—955.
73. Untersuchungen über die Bedeutung von Beiztemperatur und Beizdauer für die Wirkung verschiedener Beizmittel. Arb. Biol. Reichsanst. **14**, **1925**, 367—410 (zus. m. H. Rabien).
74. Versuche mit Trockenbeizmitteln. Z. Landw. Kammer Braunschw. **94**, **1925**, 283—285.
75. Die Feststellung der Schädigung des Saatgutes durch Beizmittel. Z. Pflkrankh. **36**, **1926**, 25—41.
76. Über das Auflaufen gebeizten Saatgutes bei verschiedenen Keimungstemperaturen. D. Ldw. Presse **53**, **1926**, 69—70.
77. Der Einfluß des Wetters auf die Saatgutqualität. Wiener Ldw. Z. **1926**, Nr. 18 u. 19.
78. Der Botanische Garten und das Botanische Institut der Technischen Hochschule Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig. Braunschweig **1926**, 36 S.
79. Neue Untersuchungen über Frühtreiben mittels Blausäure. Zellstimulationsforschg. **2**, **1926**, 1—46.
80. Der gegenwärtige Stand der Stimulationsfrage. Ber. D. Bot. Ges. **44**, **1926**, 341—367.
81. Paul Falkenberg (Nekrolog). Ibid. **44**, **1926**, (88)—(94).
82. Praktische Anleitung zum Frühtreiben von Pflanzen mittels Blausäure. Berlin **1927**, 30 S. (zus. m. W. Heuer).
83. Benetzungsbeize mit geringen Flüssigkeitsmengen. Angew. Bot. **9**, **1927**, 1—12.
84. Über primäre und sekundäre Beizwirkung. Ibid. **9**, **1927**, 66—76.
85. Die Frage der Rostanfälligkeit als ernährungsphysiologisches Problem. Ibid. **9**, **1927**, 531—541.
86. Verbesserungsmöglichkeiten der Benetzungsbeize. D. Landw. Presse **54**, **1927**, 159—160.
87. Untersuchungen über die Infektionsbedingungen der Getreiderostpilze. Arb. Biol. Reichsanst. **15**, **1927**, 417—436 (zus. m. G. O. Appel).
88. Blausäurebegasungen als Mittel zur schnellen Erzielung voller Keimreife. Pflanzenbau **4**, **1927/28**, 1—4 (zus. m. K. Hassebrauk).
89. Untersuchungen über die Infektionsbedingungen von *Puccinia glumarum* und *Puccinia graminis*. Arb. Biol. Reichsanst. **16**, **1928**, 609—629 (zus. m. W. Straib).
90. Pflanzenkrankheiten. In: Handb. Landw., Berlin **1928**, 447—524.
91. Frühtreibversuche mit Rosen. Blumen- u. Pflzb. **43**, **1928**, 24—26 (zus. m. H. Rabien).
92. Weitere Untersuchungen zur Frage des Frühtreibens durch gasförmige Blausäure. Gartenbauwiss. **1**, **1928**, 385—402 (zus. m. H. Rabien).
93. Untersuchungen über die Abhängigkeit des Infektionsverhaltens der Getreiderostpilze vom Kohlensäuregehalt der Luft. Phytopath. Z. **1**, **1929**, 1—30 (zus. m. W. Straib).
94. Experimentelle Untersuchungen über das Verhalten der Weizensorten gegen *Puccinia glumarum*. Ibid. **1**, **1929**, 215—275 (zus. m. W. Straib).

95. Vergleichende Frühtreibversuche mit Cyancalciumpräparaten. Gartenbauwiss. **2**, 1929, 1—23 (zus. m. H. Rabien).
96. Frühtreiben mittels Kalziumcyanid (Cyanogas). Blumen- u. Pflzbau **44**, 1929, H. 3.
97. Anleitung zum Frühtreiben mittels Cyancalcium. Berlin 1929, 8 S. (zus. m. W. Heuer).
98. Die Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten. Deutsche Forschg., H. 9, Landwirtschaftswiss. 1929, 8 S.
99. Wesen, Wirkung und Bewertung chemischer Pflanzenschutzmittel. Z. Angew. Chemie **42**, 1929, 865—869.
100. Die experimentelle Bestimmung der Frosthärte von Getreidepflanzen. Züchter **1**, 1929, 257—264.
101. Beitrag zur Frage der Getreiderostbekämpfung auf chemischem Wege. Phytopath. Z. **2**, 1930, 361—376 (zus. m. W. Straib).
102. Untersuchungen über die Wirkung von Temperatur und Temperaturkombinationen auf die Keimung von *Poa pratensis* und anderen *Poa*-Arten. Z. Bot. **23**, 1930, 767—838.
103. Über die Anthocyanbildung junger Getreidepflanzen und ihre Verwertbarkeit als Sortenmerkmal. Wiss. Archiv f. Landw., Abt. Pflanzenbau **4**, 1930, 169—195 (zus. mit W. Straib).
104. Über das Auftreten einer neuen Gelbrostform auf Weizen. Züchter **2**, 1930, 313—317 (zus. m. W. Straib).
105. Der Einfluß der Umweltbedingungen auf das Auftreten der Getreideroste. Mitt. DLG **1931**, Stück 19.
106. Untersuchungen zur Frage der biologischen Spezialisierung des Weizengelbrostes. Züchter **3**, 1931, 1—12 (zus. m. W. Straib).
107. Die künstliche Rostinfektion von Freilandpflanzen und ihre Bedeutung für den Pflanzenzüchter. Ibid. **3**, 1931, 240—243 (zus. m. W. Straib).
108. Über die Durchführung der Frosthärteprüfungen von Getreidezuchtstämmen. Ibid. **3**, 1931, 297—300 (zus. m. H. Rabien).
109. Das Standardsortiment zum Nachweis der physiologischen Spezialisierung des Weizenbraunrostes, *Puccinia triticina* Erikss. Arb. Biol. Reichsanst. **19**, 1931, 403—406.
110. Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Mineralsalzernährung und Verhalten der Getreidepflanzen gegen Rost. Phytopath. Z. **3**, 1931, 535—617 (zus. m. K. Hassebrauk).
111. Zur Frage der Konstanz des Infektionstypus von *Puccinia triticina* Erikss. Ibid. **4**, 1931, 57—64 (zus. m. W. Straib).
112. Neue Feststellungen über Auftreten und Verbreitung der Getreiderostarten in Südamerika. Ibid. **4**, 1931, 189—203.
113. Mikroskopische Untersuchung pflanzlicher Nahrungs- und Genußmittel. Jena 1931.
114. Zur Frage der Frosthärtebestimmung durch refraktometrische Untersuchung von Pflanzenpreßsäften. Phytopath. Z. **4**, 1932, 387—413 (zus. m. G. Goeze).
115. Über Verschiebungen der Rostresistenz während der Entwicklung der Getreidepflanzen. Ibid. **4**, 1932, 549—596.
116. Die biologische Station Alto da Serra. Ber. D. Bot. Ges. **50**, 1932, 154—164.
117. Über die Wirkung einiger Pflanzenschutzmittel auf das Assimilationsverhalten von Blättern. Ibid. **50**, 1932, 517—528 (zus. m. G. Goeze).
118. Über den Einfluß der Kaliernährung auf die Assimilationsgröße von Weizenblättern. Ibid. **50 a**, 1932, 412—482 (zus. m. G. Goeze).
119. Über Mutationen in einer biologischen Rasse von *Puccinia glumarum tritici* (Schmidt) Erikss. u. Henn. Z. indukt. Abst.- u. Vererb.lehre **63**, 1932, 154—180 (zus. m. W. Straib).
120. Die Bestimmung der biologischen Rassen des Weizengelbrostes *(Puccinia glumarum* f. sp. *tritici* (Schmidt) Erikss. u. Henn. Arb. Biol. Reichsanst. **20**, 1932, 141—163 (zus. m. W. Straib).
121. Methodik der Prüfung auf Winterfestigkeit bei Getreide und Nutzanwendung der Ergebnisse für die praktische Pflanzenzüchtung. Mitt. DLG **1932**, Stück 44.

122. Über die Beeinflussung der Rostanfälligkeit durch Eintauchen geimpfter Blätter in Lösungen von Mineralsalzen und anderen Stoffen. Phytopath. Z. **5**, 1933, 323—342 (zus. m. K. Hassebrauk).
123. Neue Wege zur Bekämpfung des Weizenflugbrandes durch Beizung. Ibid. **5**, 1933, 407—433.
124. Versuche zur Bekämpfung des Weizenflugbrandes mittels Benetzungsbeize. Ibid. **6**, 1933, 453—468 (zus. m. H. Kirchhoff).
125. Weitere Untersuchungen über die Abhängigkeit der Assimilationsgröße junger Getreideblätter von der Kaliernährung der Versuchspflanzen. Planta **20**, 1933, 391 bis 406 (zus. m. G. Goeze).
126. Ruheperioden. in: Handwörterbuch der Naturw. 2. A. Jena 1933, 646—654.
127. Untersuchungen über das Auftreten biologischer Rassen des Weizengelbrostes im Jahre 1932. Arb. Biol. Reichsanst. **21**, 1934, 59—72 (zus. m. W. Straib).
128. Weitere Untersuchungen über biologische Rassen und über die Spezialisierungsverhältnisse des Gelbrostes *Puccinia glumarum* (Schm., Erikss. u. Henn.). Ibid. **21**, 1934, 121—145 (zus. m. W. Straib).
129. Einige vergleichende Versuche über Verschiebungen der Rostresistenz in Abhängigkeit vom Entwicklungszustand der Getreidepflanzen. Phytopath. Z. **7**, 1934, 43—52 (zus. m. H. Kirchhoff).
130. Zweijährige Feldversuche über den Einfluß der Düngung auf die Rostanfälligkeit von Getreidepflanzen. Ibid. **7**, 1934, 53—61 (zus. m. K. Hassebrauk).
131. Der Einfluß der Mineralsalzernährung auf das Anfälligkeitsverhalten der zur Rassenbestimmung von Getreiderosten dienenden Standardsortimente. Ibid. **7**, 1934, 63—72 (zus. m. K. Hassebrauk).
132. Der Stickstoffhaushalt junger Weizenpflanzen in seiner Abhängigkeit von der Mineralsalzernährung. Ein Beitrag zum Problem der Rostresistenz. Ibid. **7**, 1934, 187—222 (zus. m. W. Franke).
133. Versuche zur Bekämpfung des Weizenflugbrandes mittels Benetzungsbeize. II. Mitt. Ibid. **7**, 1934, 721—284 (zus. m. H. Kirchhoff).
134. Experimentelle Untersuchungen zur Epidemiologie des Gelbrostes *(Puccinia glumarum* [Schm.] Erikss. u. Henn.). Ibid. **7**, 1934, 285—302 (zus. m. W. Straib).
135. Versuche zur Bekämpfung des Gerstenflugbrandes. Ibid. **7**, 1934, 303—314 (zus. m. H. Kirchhoff).
136. Über den Einfluß der Temperatur auf Stickstoffgehalt und Rostresistenz junger Getreidepflanzen. Ibid. **7**, 1934, 315—326 (zus. m. W. Franke).
137. Untersuchungen zur Frage der Uredoüberwinterung der Getreideroste in Deutschland. Ibid. **7**, 1934, 355—392 (zus. m. E. Pieschel).
138. Beiträge zur Kenntnis des Spargelrostes. Gartenbauwiss. **8**, 1934, 455—476 (zus. m. K. Hassebrauk).
139. Über Spargelrost und seine Bekämpfung. D. Landw. Presse **61**, 1934, Nr. 18 (zus. m. K. Hassebrauk).
140. Assimilationsverhalten, Chlorophyllgehalt und Transpirationsgröße von Getreideblättern mit besonderer Berücksichtigung der Kalium- und Stickstoffernährung. Z. Bot. **27**, 1934, 257—340 (zus. m. G. Goeze).
141. Zur Frage der Spargelrostbekämpfung. Obst- u. Gemüsebau **80**, 1934, 101—102 (zus. m. K. Hassebrauk).
142. Der Einfluß der Anzuchttemperatur auf Assimilation, Chlorophyllgehalt und Transpiration junger Getreideblätter. Ber. D. Bot. Ges. **52**, 1934, 321—335 (zus. m. G. Goeze).
143. Einige Versuche zum Nachweis biologischer Rassen innerhalb des Roggenbraunrostes, *Puccinia dispersa* Erikss. u. Henn. Phytopath. Z. **7**, 1934, 479—486 (zus. m. H. Kirchhoff).
144. Zur Frage der Beeinflussung des Flugbrandbefalls durch Umweltfaktoren und chemische Beizmittel. Ibid. **7**, 1934, 487—503 (zus. m. H. Kirchhoff).

145. Die Bedeutung des Kalium-Stickstoffverhältnisses im Boden für Assimilation, Chlorophyllgehalt und Transpiration junger Getreidepflanzen. Z. Pfl.ernähr., Düngg., Bodenkde. A **36**, **1934**, 61—180 (zus. m. G. Goeze).
146. Einige Versuche über den Stickstoffhaushalt lichtkeimender Samen im dunklen Keimbett. Z. Bot. **28**, **1935**, 446—463 (zus. m. W. Franke).
147. Einige Versuche und ein Vorschlag zur Bestimmung des aufnehmbaren Bodenstickstoffs. Z. Pfl.ernähr., Düngg., Bodenkde. A **42**, **1936**, identisch mit:
148. Versuche zur Bestimmung des aufnehmbaren Bodenstickstoffs durch Bestimmung des Chlorophyllgehaltes. Ergebn. Agrikulturchem. **4**, **1935**, 106—122 (zus. m. G. Goeze).
149. Die Bedeutung der Wasseraufnahme des Weizenkorns, insbesondere des Weizenembryos, für Wirkung und Wirkungsweise der Warmwassertauch- und -benetzungsbeize. Phytopath. Z. **9**, **1936**, 229—258 (zus. m. H. Kirchhoff).
150. Einige Versuche über die physiologische Leistungsfähigkeit rostinfizierter Getreideblätter. Ibid. **9**, **1936**, 371—386 (zus. m. G. Goeze).
151. Untersuchungen zur Frage der Getreiderostbekämpfung mit chemischen Mitteln. Ibid. **9**, **1936**, 427—454 (zus. m. K. Hassebrauk).
152. Untersuchungen zur Bestimmung der Ernteverluste des Weizens durch Gelb- und Schwarzrostbefall. Ibid. **9**, **1936**, 479—505 (zus. m. W. Straib).
153. Untersuchungen über den Einfluß der Mineralsalzernährung auf die Anthocyanbildung an jungen Gerstenpflanzen. Angew. Bot. **19**, **1937**, 225—245 (zus. m. W. Straib).
154. Untersuchungen über den Einfluß von Äther- und Chloroformnarkose auf das Rostverhalten junger Getreidepflanzen. Phytopath. Z. **11**, **1938**, 47—97 (zus. m. K. Hassebrauk).
155. Einige Versuche über die Beeinflussung des Stickstoffhaushaltes junger Weizenblätter durch den Kohlensäuregehalt der Luft. Ibid. **11**, **1938**, 98—106 (zus. m. W. Franke).
156. Einige abschließende Versuche über die Wirkung der Warmbenetzungsbeize. Ibid. **11**, **1938**, 115—120 (zus. m. H. Kirchhoff).
157. Die Wirkung tiefer Keimtemperaturen auf den Stickstoffhaushalt junger Weizenkeimblätter. Ibid. **11**, **1938**, 297—318 (zus. m. W. Franke).
158. Über Partialinfektionen von Weizenkörnern durch *Tilletia* und die Entstehung der Steinbrandbutten. Ibid. **11**, **1938**, 451—468 (desgl. auch türkisch m. deutsch. Zus.).
159. Über Auftreten und Verbreitung von *Tilletia tritici* und *Tilletia foetens* in der Türkei. Ibid. **11**, **1938**, 469—488 (desgl. auch türkisch m. deutsch. Zus., zus. m. A. Göydün).
160. Untersuchungen über Keimgeschwindigkeit und Infektionsvermögen verschiedener Stämme von *Tilletia foetens* und *Tilletia tritici*. Ibid. **11**, **1938**, 489—516 (desgl. auch türkisch m. deutsch. Zus., zus. m. A. Göydün).
161. Untersuchungen über den Stickstoffhaushalt rostinfizierter Getreideblätter. Ibid. **11**, **1938**, 517—570 (zus. m. W. Franke).
162. Über die Hartschaligkeit von Robiniensamen und eine Methode zu ihrer Beseitigung. Angew. Bot. **20**, **1938**, 293—303 (desgl. auch türkisch m. deutsch. Zus.).
163. Einige Feststellungen über gleichzeitiges Vorkommen von *Tilletia tritici* und *Tilletia foetens* in der gleichen Weizenähre (türkisch m. deutsch. Zus.). Arb. d. Zentralinst. f. Pflanzenschutz Ankara **1**, **1938**, 14—18.
164. Über *Tilletia tritici „forma intermedia"*. Ibid. **1**, **1938**, 19—25 (türkisch m. deutsch. Zus.).
165. Untersuchungen, Betrachtungen und Vorschläge zur Beizfrage in der Türkei (türkisch m. deutsch. Zus.). Ibid. **3**, **1938**, 3—41 (zus. m. A. Göydün).
166. Neuere Versuche zur Steinbrandbekämpfung (türkisch m. deutsch. Zus.). Ibid. **3**, **1938**, 41—55 (zus. m. A. Göydün).
167. Krankheiten und Schädlinge von Aprikose und Pfirsich (türkisch). Ankara **1938** (zus. m. B. Alkan, R. Burak u. M. Ülgen).
168. Anleitung zur Bekämpfung der Gelbnervigkeit der Citrusbäume (türkisch). Flugblatt des Zentralinst. f. Pflanzenschutz Ankara **1939** (zus. m. O Ari u. R. Tahir).
169. Untersuchungen über das „Mal secco" oder „Kurutan" der Limonbäume. Phytopath. Z. **13**, **1940**, 1—90.

170. Untersuchungen über das Citrus-Sterben von Dörtyol oder die Gelbnervigkeit der Citrusbäume. Ibid. **13**, **1940**, 97—125.
171. Dendroklimatologische Untersuchungen über die Jahresringentwicklung der Kiefern in Anatolien. Nova Acta Leopold. NF **12**, **1942**, 1—137 (zus. m. F. Christiansen-Weniger).
172. Die Topallik-Erkrankung der Baumwolle. Phytopath. Z. **14**, **1943**, 1—4.
173. Zur Methodik der laboratoriumsmäßigen Prüfung von Beizmitteln. Ibid. **14**, **1943**, 303—309.
174. Beiträge zur Giftwirkung der Quecksilberalkyle. Ibid. **14**, **1943**, 385—389.
175. Panaschierung und Weißährigkeit von Getreidepflanzen und Wildgräsern als Folge klimatischer Einwirkungen. Ibid. **14**, **1943**, 397—425.
176. Über *Puccinia anatolica n.* sp. auf *Vinca herbacea* W. et K. Ibid. **14**, **1943**, 455—477.
177. Die chemotherapeutische Bewertung von Quecksilberverbindungen in den verschiedenen Beizverfahren. Ibid. **15**. **1944**, 69—104.
178. Die Biologische Zentralanstalt der US- und britischen Zone. Nbl. Biol. Zentralanst. Braunschw. **1**, **1949**, 1—3.
179. Zur Methodik der Beizmittelprüfung auf Schneeschimmel. Ibid. **1**, **1949**, 77—78.
180. Der Einfluß der Standweite auf den Befall des Mohns durch *Helminthosporium papaveris* Hennig. Ibid. **1**, **1949**, 119—123.
181. Massenvermehrung und Bekämpfung des Goldafters auf den Inseln Borkum und Juist. Ibid. **1**, **1949**, 163—165 (zus. m. P. Steiner).
182. Neuere Versuche zur Bekämpfung des Gerstenflugbrandes. Nbl. D. Pfl.schutzdienst (Braunschweig) **2**, **1950**, 65—67.
183. Die neuzeitliche Entwicklung der fungiziden Pflanzenschutzmittel. 1. Intern. Konf. f. Pflanzensch. u. Schädlingsbek. Rom **1950**.
184. Neuere Untersuchungen über die Flugbrandbekämpfung bei Weizen und Gerste. 7. Intern. Bot. Kongr. Stockholm **1950**.
185. Mikroskopische Untersuchung pflanzlicher Nahrungs- und Genußmittel. 2. erw. Aufl. Jena **1951**, 372 S.
186. Steht der Pflanzenschutz vor einer Krise? Nbl. D. Pflsch. D. (Braunschw.) **3**, **1951**, 81—83.
187. Über Gaswirkung quecksilberhaltiger Beizmittel. Ibid. **3**, **1951**, 113—117.
188. Zur Frage der Übertragung von *Cercospora beticola* durch das Rübensaatgut. Angew. Bot. **26**, **1952**, 55—59.
189. Über die Wirkung von Kupferkalkspritzungen auf Ertrag und Stärkegehalt der Kartoffeln. Ibid. **26**, **1952**, 60—68 (zus. m. H. Grimm).
190. 50 Jahre Vereinigung für Angewandte Botanik. Ibid. **26**, **1952**, 115—117.
191. Das osmotische Verhalten keimender Weizenkörner. Züchter **22**, **1952**, 65—79 (zus. m. G. Baumgarten).
192. Beizung und Entseuchung von Saat- und Pflanzgut. In: Handbuch d. Pflanzenkrankheiten VI, 1. 2. A. Berlin **1952**, 334—373.
193. Pflanzenkrankheiten. In: Handbuch der Landwirtschaft I, 2. A. Berlin **1952**, 549—623.
194. Keimungstemperatur und Flugbrandbefall. Tijdsch. Plantenziekten **58**, **1952**, 219—223.
195. Der Zug der Zehntausend nach Trapezunt. Abhandl. Braunschw. Wiss. Ges. **5**, **1953**, 1—35.
196. Untersuchungen zur physiologischen Charakterisierung unserer Weizensorten. Züchter **23**, **1953**, 193—206.
197. Frühtreiben durch Beizung mit quecksilberhaltigen Beizmitteln. Angew. Bot. **27**, **1953**, 37—47.
198. Untersuchungen über die Temperatur- und Lichtabhängigkeit der Sporenkeimung verschiedener *Tilletia*-Arten. Phytopath. Z. **21**, **1954**, 367—394 (zus. m. E. Niemann).
199. Über die Infektion von Weizen und Roggen durch verschiedene *Tilletia*-Arten. Ibid. **22**, **1954**, 109—124 (zus. m. E. Niemann).
200. Symptome der Steinbranderkrankung *(Tilletia)* bei Weizen und Roggen. Phytopath. Z. **22**, **1954**, 288—300 (zus. m. E. Niemann).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Köln

Über den Einfluß von „Systox", „Metasystox" und „Pestox" auf die Kerne und Chromosomen von *Vicia faba*

Von

S. S. Bhattacharyja und H. F. Linskens

Mit 9 Abbildungen

Einleitung

Systemisch wirkende Insektizide treten mit dem pflanzlichen Organismus in einen weit intensiveren Kontakt als solche, die im wesentlichen äußerlich appliziert werden und ihre Wirksamkeit an den Grenzflächen gegenüber Luft ausüben. Die innertherapeutische Wirkung solcher Chemikalien beruht entweder auf der Tatsache, daß sie von der Wurzel aufgenommen und auf dem Wege über die Fibro-Vasal-Stränge im ganzen Pflanzenkörper verteilt werden (Tietz 1953, Unterstenhöfer 1954), oder darauf, daß sie bei Applikation an den Blattoberflächen sich durch Diffusion verlagern. Die Translokation der insektiziden Substanzen hat zur Folge, daß diese vorübergehend in der l e b e n d e n Zelle gespeichert werden. Damit gewinnen alle Fragen, die sich mit der Beeinflussung der Lebensfunktionen durch interplantär wirkende Präparate befassen, erhöhte Bedeutung. Nur solche Stoffe können auf die Dauer als Phytotherapeutika in Frage kommen, deren chemotherapeutischer Index im Hinblick auf a l l e P r o z e s s e in der Zelle kleiner als 1 ist (Gäumann 1951).

Bislang liegen nur wenige Untersuchungen vor, die sich kritisch mit dem Einfluß von Innertherapeutika auf den Ablauf der biologischen Prozesse befassen. Gasser (1952) fand, daß durch 5,5-Dimethyldihydroresorcindimethylcarbamat („Dimetan") und 1-Phenyl-3-methylpyrazolyl-(5)-dimethylcarbamat („Pyrolan") zellphysiologische Faktoren (Plasmolyse, osmotische Zustandsgrößen, Zellteilung) im Bereich der praktisch zur Verwendung gelangenden Konzentrationen nicht beeinflußt werden. Tietz (1953) beobachtete auf Autoradiographien, daß der Diäthylthionophosphorsäureester des β-Oxyäthylthioäthyläthers („E 1059") nach Sättigung des Plasmas in die Vakuole abgegeben wird. Waeckers (1954) berichtet über reversible Photosynthesehemmung und Atmungssteigerung bei den Algen *Ankistrodes-*

mus und *Chlorella* unter dem Einfluß von „Systox", „Ompa" und „Schradan". Neuerdings haben BRUHIN und WANNER (1954) die Urethane „Dimetan" und „Pyrolan" auf ihre zytologische Wirkung an *Crepis* und *Vicia faba* geprüft. Sie fanden dabei zahlreiche irreversible Störungen der Mitose bei den verschiedensten Applikationsmethoden.

Unter den biologischen Prozessen sprechen Mitose und Meiose besonders leicht und intensiv auf Änderungen des physiologischen Milieus an. So ist der *Allium*-Test zur Prüfung der Wirkung zahlreicher anorganischer Salze auf den Verlauf der Zellteilungsvorgänge von LEVAN und Mitarbeitern (1945, 1948, 1949, 1952) ausgebaut worden.

Die Beobachtung von Zellteilungsstörungen gibt nicht nur Aufschluß über die Wirkung von Giften in der Ontogenese einer Pflanze, sondern sie läßt auch Schlüsse zu auf die genetischen Folgen der betreffenden Behandlung.

Während extraplantäre Insektizide hinsichtlich ihrer zytologischen Wirkung gelegentlich untersucht wurden (VAARMA 1947: DDT; DOXEY 1949: Karbamate), fehlen einschlägige Beobachtungen für jene Stoffe, die für den künftigen Ausbau der inneren Therapie der Pflanzen die besten Aussichten bieten (UNTERSTENHÖFER 1954). Wir untersuchten daher vergleichend die Präparate „Systox", „Metasystox" und „Pestox" an einem klassischen Objekt der Zytologie, der Wurzelspitze von *Vicia faba*, im Hinblick auf ihre Wirkung auf Mitose und Meiose.

Angaben über die Substanzen

Die von uns auf ihre zytologische Wirkung hin untersuchten Substanzen kommen in fast idealer Weise den Anforderungen, die an ein systemisches Insektizid hinsichtlich der insektiziden Potenz, Stabilität, translokalen Wirkung gestellt werden, entgegen (UNTERSTENHÖFER 1954). Sie stammen aus

---

Abb. 1. MSy 0,01 %, 48 Stunden nach Erholung, Wasser. Metaphase. Starke Unterschiede in der Färbbarkeit der Chromosomen. Stadium 1 und 8

Abb. 2. Sy 0,01 %, 24 Stunden Wasser. Metaphase der Mitose. Schwache Störung, leichte Entspiralisierung, korrodiert. Chromosomen an einzelnen Stellen agglutiniert. Stadium 7

Abb. 3. Px 0,1 %, 24 Stunden Wasser. Ruhe- bzw. Prophasekerne, Metaphasechromosomen. Chromosomen stark verklumpt, Kerne korrodiert (↓). Stadium 9

Abb. 4. MSy 0,01 %, 48 Stunden Wasser. Metaphase. Anomal stark verkürzte Chromosomen. Stadium 8

Abb. 5. Sy 0,1 %, Sand. Späte Prophase. Verklumpung.

Abb. 6. Px 0,1 %, Wasser, 48 Stunden nach Erholung. Metaphase. Spindelstörung und zum Teil Verklumpung. Stadium 5 und 6

Abb. 7. MSy 0,1 %, 48 Stunden Humusboden. Späte Prophase. Starke Verklumpung, benachbarte Kerne korrodiert (im Bild rechts unten). Stadium 10

Abb. 8. Px 0,01 %, 24 Stunden Wasser. Metaphase. Chromosomen zum Teil korrodiert, schwache Verklumpung. Stadium 6

Abb. 9. MSy 0,01 %, 48 Stunden Wasser. Späte Prophase. Chromosomen anomal schwach färbbar. Stadium 5

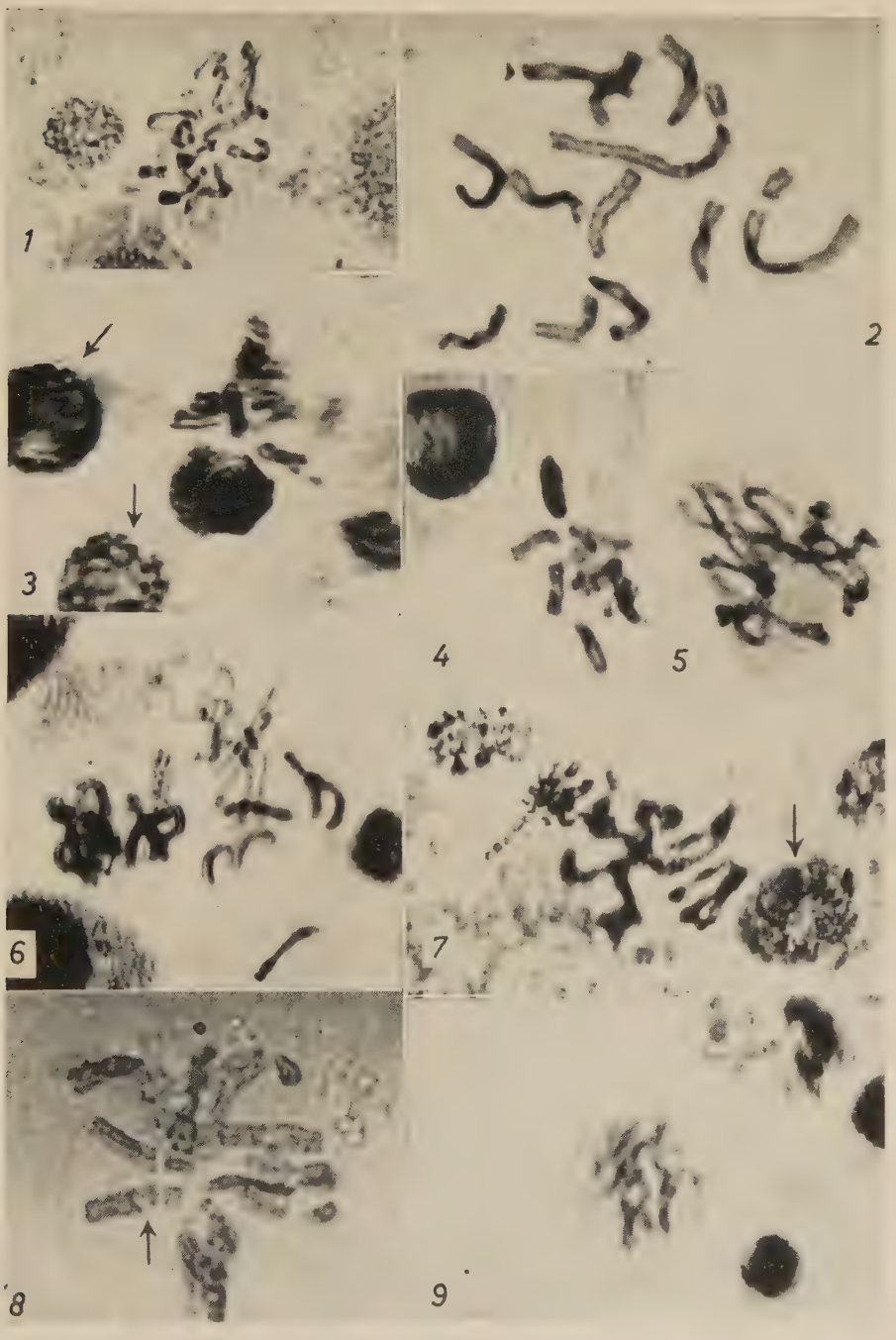


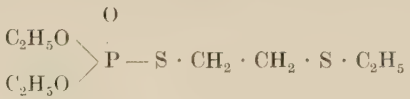
Abb. 1—9

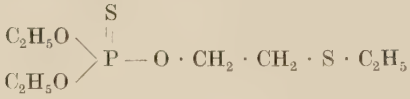
Erklärungen siehe nebenstehend S. 234

dem Laboratorium von G. SCHRADER (Wuppertal-Elberfeld) und wurden uns von der Pflanzenschutz-Abteilung der Farbenfabriken Bayer (Dozent Dr. UNTERSTENHÖFER, Dr. TIETZ) in freundlicher Weise zur Verfügung gestellt. Es handelt sich bei den verwandten Präparaten „Systox" und „Metasystox" um Substanzen hohen Reinheitsgrades, wie sie nicht in den Handel kommen; „Pestox" stand uns als Handelspräparat zur Verfügung.

a) Systox (Sy)

Das Präparat Systox ist ein Gemisch der Diäthyl-thiol-phosphorsäureester (1) und Diäthyl-thiono-phosphorsäureester (2) des β-Oxyäthyl-thioäthyläthers. Die beiden isomeren Komponenten weisen nur geringfügige Unterschiede hinsichtlich ihres physikalischen Verhaltens auf (TIETZ 1953). Die Verbindungen haben eine Molekulargewicht von 258. Da die isomeren Formen ineinander übergehen, verwandten wir auch zu unseren Versuchen


(1)


(2)

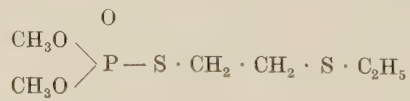
das Gemisch, wie es bei Spritzungen zur Anwendung kommt, und zwar in dem Verhältnis:

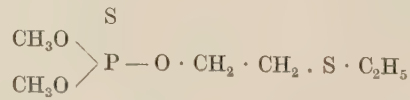
15 Teile P = O -Verbindung
35 Teile P = S -Verbindung
50 Teile Emulgator 233.

Das so als Gemisch vorliegende Präparat wurde nunmehr entsprechend mit Wasser zu Brühen verdünnt, die auf die Versuchsobjekte einwirkten.

b) Metasystox (MSy)

Das Präparat Methylsystox oder Metasystox ist ein Gemisch der Dimethyl-thiol-phosphorsäureester (3) und Dimethyl-thiono-phosphorsäureester (4) des β-Oxyäthyl-thioäthyläthers. Die Verbindungen haben ein Molekulargewicht von 230. Auch Metasystox liegt stets als Gemisch vor:


(3)


(4)

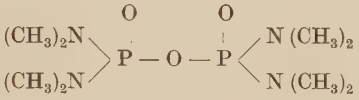
Wir verwandten es zu unseren Untersuchungen in folgendem Verhältnis:

20 Teile P = O -Verbindung
30 Teile P = S -Verbindung
50 Teile Emulgator 233.

Beide Stoffgruppen sind weitgehend wasserunlöslich, so daß sie stets mit einem Lösungsvermittler appliziert werden müssen. Der von uns hierzu benutzte Emulgator 233 oder W ist ein Polyäthylenglycoläther und erwies sich in Vorversuchen als in zytologischer Hinsicht unwirksam.

c) Pestox (Px)

Pestox oder Schradan ist ein Oktamethyl-tetra-pyrophosphorsäureamid (5) vom Molekulargewicht 286. Das Präparat hat einen Gehalt an wirksamer Substanz von 44 %.



(5)

Die empfohlenen Anwendungskonzentrationen als Innertherapeutika sind für Systox 0,05 %, Metasystox 0,1 %, Pestox 0,1 %.

Bezüglich Einzelheiten hinsichtlich der insektiziden Wirkung und physikalischen Eigenschaften muß auf die Monographie von Schrader (1952) und die Angaben von Tietz (1953) verwiesen werden.

Untersuchungsmethodik und Darstellung der Beobachtungen

Vicia faba bietet für die zytologische Analyse mehrere Vorteile: Mitosestadien sind in der wachsenden Wurzelspitze, insbesondere der Seitenwurzeln, häufig und leicht zu beobachten. Die geringe Zahl der Chromosomen und deren leicht übersehbare Morphologie machen sie geeignet zu vergleichenden Studien von Chromosomen-Anomalitäten unter dem Einfluß von Außenfaktoren.

Die mikroskopische Analyse erfolgt nach der Karmin-Essigsäure-Quetschmethode. Jedem im Protokoll wiedergegebenen Ergebnis liegen Beobachtungen an je fünf Wurzelspitzen von fünf verschiedenen Pflanzen vor, so daß die für die einzelnen Konzentrationen wiedergegebenen Resultate auf der Untersuchung mehrerer hundert Zellen beruhen. Die Darstellung der Ergebnisse geben wir zusammenfassend in Form von Tabellen. Die darin aufgeführten Zahlen sind in einer subjektiv gewählten Skala bestimmten zytologischen Anomalitäten zugeordnet. Wir haben die Stärke des Effektes in der Reihenfolge der Zahlen auszudrücken versucht, so daß bei einer ersten Überschau aus der Größe der Zahlen auf die Höhe des störenden Effektes geschlossen werden kann. Im einzelnen bedeuten:

0 = Kern und Plasma normal färbbar, keine Anomalien,
1 = Kern und Plasma schwächer färbbar,
2 = Spindelaktivität gehemmt,
3 = Zytoplasma hydrolysiert,
4 = Zellteilung gestoppt,
5 = Chromosomen entspiralisiert,
6 = Chromosomen schwach geklumpt,
7 = Chromosomen in eine Ebene gestreckt,
8 = Chromosomen verkürzt und verdichtet,
9 = Chromosomen stark geklumpt,
10 = Kalymma agglutiniert,
11 = Zytoplasma koaguliert,
12 = Kern vakuolisiert,
13 = Kern deformiert, oval oder elliptisch,
14 = Kern stark korrodiert,
15 = Pflanze abgestorben, Zytoplasma koaguliert, Kern korrodiert.

Eine weitere Differenzierung der Angaben wird zum Ausdruck gebracht durch Fettdruck der Zahlen, der einen besonders ausgeprägten Effekt bedeutet, während Einklammern der Zahlen schwächere Ausprägung der Phänomene anzeigt.

Versuche

1. Versuchsfrage: Welche zytologischen Effekte haben wäßrige Brühen von Systox, Metasystox und Pestox nach 24stündiger Einwirkung auf Wurzelspitzen?

Tabelle 1

Zytologische Effekte an Wurzelspitzen von *Vicia faba* nach 24stündiger Einwirkung in wäßrigen Lösungen von Sy, MSy und Px

Konzentration %	Systox	Metasystox	Pestox
1,0	**15, 14**	**15, 13**	**15, 12**
0,1	**14, 11**	(14), 9	9, 8, 1
0,01	7, 5	7, 5, 3	(7), 6, 2
0,001	(7), 4	5, 1	(6), 1
0,0001	0	0	0
Kontrolle	0	0	0

Vicia faba-Pflanzen wurden in Sägemehl herangezogen und nach acht Tagen die Spitzen der Hauptwurzeln dekapitiert. Nach weiteren drei Tagen waren zahlreiche Nebenwurzeln ausgebildet, die nach dem Herauswaschen aus dem Substrat in wäßrige Brühen von 1 % bis 0,0001 % der Präparate bei 20 ° C eingestellt wurden. Nach 24 Stunden wurden die Pflanzen entnommen, die Wurzelspitzen fixiert und zytologisch analysiert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammen dargestellt.

Während die in Wasser befindlichen Kontrollen keinerlei Schäden aufwiesen, sind die in 1 %igen Lösungen befindlichen Pflanzen sehr stark geschädigt: Die Wurzelspitzen haben sich schwarz verfärbt und ihre Turgeszenz verloren. Die Pflanzen sind bis zum Hypokotyl hinauf verfärbt und beginnen abzusterben. In 0,1 % sind die Wirkungen für die drei untersuchten Substanzen nicht mehr einheitlich: Nach 24 Stunden sind die Pflanzen in Systox-Lösung noch stark geschädigt, die Kerne sind korrodiert, die Chromosomen in den Teilungsstadien entspiralisiert, die Kalymma ist aufgelöst. Demgegenüber scheint die 0,1%ige Konzentration MSy von geringerer Wirkung zu sein, da in den sich teilenden Zellen zwar die Chromosomen zum Teil zu einer zentralen Masse, zum Teil in zwei bis drei Gruppen, verklumpt sind und so den Eindruck von Prophasestadien erwecken. Die Ruhekerne sind jedoch wenig angegriffen. 0,1 % Pestox zeigt hydrolytische Wirkung, die Kerne sind als ganze geschrumpft und zum Teil nicht mehr färbbar. Mit fallender Konzentration werden auch die Effekte schwächer. Während 0,01 % Sy Spindelstörungen hervorruft, so daß die Metaphasechromosomen ungleichmäßig verteilt sind, wirkt 0,001 % wie ein Fixierungsmittel: Die Chromosomen sind in eine Ebene gestreckt und daher sehr gut zu beobachten. Äußerlich scheinen die Pflanzen vollkommen gesund. Nach 24stündiger Einwirkung von 0,0001 % Sy können keinerlei Störungen im zytologischen Geschehen mehr beobachtet werden.

Im Vergleich dazu schwächen die Wirkungen von MSy und Px mit fallender Konzentration rascher ab. MSy in 0,01 %iger Konzentration führt zu einer offensichtlichen Spindelhemmung bei sehr klarer Chromosomenmorphologie, während 0,001 % schwach granulierte Kerne bewirkt. Px gibt bereits bei 0,001 % nur sehr schwache Effekte, während es bei 0,01 % noch zu schwacher Verklumpung der Anaphasegruppen kommt, keine Despiralisation bemerkt wird, die Spindel jedoch außer Aktion ist.

2. Versuchsfrage: Welche zytologischen Effekte haben wäßrige Brühen von Systox, Metasystox und Pestox nach 48stündiger Einwirkung auf Wurzelspitzen?

Die Beobachtungsergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengestellt:

Tabelle 2

Zytologische Effekte an Wurzelspitzen von *Vicia faba* nach 48stündiger Einwirkung von wäßrigen Lösungen von Sy, MSy und Px

Konzentration %	Systox	Metasystox	Pestox
1,0	**15**	**15**	**15**
0,1	**15**	**14**, 9, 3	9, 3
0,01	(15), 14, 6, 4	9, 5, **2**	(5), 1
0,001	3	5, 1	1
0,0001	1	0	0
Kontrolle	0	0	0

Die Ergebnisse zeigen, daß die Wirksamkeit der wäßrigen Lösungen nicht nur ein konzentrationsabhängiger Vorgang ist, sondern auch ein zeitabhängiger: Die zytologischen Effekte verstärken sich mit steigender Einwirkungsdauer.

In den 1%igen Lösungen aller Präparate sind die Pflanzen abgestorben, desgleichen bei 0,1 % Sy. Darüber hinaus ergeben bereits 0,0001 % Sy Bilder, die eine Beeinflussung des zytologischen Verhaltens erkennen lassen: Die Färbbarkeit der Kernbestandteile ist verringert. Auffällig ist bei 0,001 % Sy und MSy die deutlich sichtbare Chromosomenstruktur: Die Chromosomen erscheinen hell auf dunklem Untergrund, so daß die beiden Chromonemata deutlich sichtbar sind. Morphologische Studien an den Chromosomen lassen sich nach dieser Behandlung gut durchführen.

3. Versuchsfrage: Gibt es einen „Erholungseffekt" nach 48-stündigem Aufenthalt in wäßrigen Lösungen von Systox, Metasystox und Pestox bei anschließendem Übertragen in reines Wasser?

Zu diesem Versuch wurden die Wurzelspitzen nach 48stündigem Aufenthalt in den Präparatlösungen abgespült und in reines Brunnenwasser übertragen. Die zytologische Analyse folgte zwei Tage später. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3

„Erholungseffekte". Wurzelspitzen von *Vicia faba* nach 48stündigem Aufenthalt in wäßrigen Lösungen von Systox, Metasystox und Pestox und anschließendem Aufenthalt in reinem Brunnenwasser während zwei Tagen

Konzentration %	Systox	Metasystox	Pestox
1,0	**15**	**15**	14, 13, 5, 2
0,1	12, 9	(14), 2	5, 2
0,01	(12), 6	10, 8	(5), (3)
0,001	(9)	0	0
0,0001	0	0	0
Kontrolle	0	0	0

Aus den dargestellten Ergebnissen folgt, daß nach Übertragen der gestörten Wurzelspitzen in Brunnenwasser bereits nach 48 Stunden eine Verminderung des Schadeffektes auftritt. Dieser Erholungseffekt („recovery effect") ist natürlich nur bei solchen Störungen möglich, die nicht zu einem vollständigen Absterben der Pflanzen geführt haben. Einzelne Wurzeln überleben bei 0,1 % Sy und 1 % Px und scheinen zu weiteren Teilungen fähig zu sein. Bei 0,001 MSy und Px sind alle Nachwirkungen der Vergiftung verschwunden. Bei den übrigen Konzentrationen ist ein deutlicher Rückgang der Schadwirkung zu beobachten. Bei 0,001 % Sy kann an den interstitiellen Zonen der Chromosomen eine Färbungslücke beobachtet werden, die auch

als Verarmung an Nukleinsäure nach 0,01 % MSy auftritt. Die Erholung bei Px-Behandlung geht deutlich schneller vor sich: Nach 0,01%iger Einwirkung erscheinen die Ruhekerne vollständig ungestört, es können jedoch noch gelegentlich Teilungshemmungen auftreten, während das Zytoplasma nicht geschrumpft ist. Selbst diejenigen Pflanzen, die unter 1%iger Px-Wirkung gestanden haben, sind nicht alle abgestorben. Zwar ist die Spindeltätigkeit deutlich gehemmt (höhere Mitosezahlen), die Wurzelspitzen zeigen jedoch bereits wieder langsames Wachstum.

4. Versuchsfrage: Wie wirken sich wäßrige Brühen von Systox, Metasystox und Pestox auf das zytologische Verhalten aus, wenn die Wurzelspitzen in Humuserde kultiviert werden?

Die Präparate mit innertherapeutisch wirksamen Substanzen werden zum Teil auch als Gießmittel von den Herstellern empfohlen. Es war daher von Interesse, die zytologischen Wirkungen bei einer Versuchsanordnung zu beobachten, bei der die Pflanzen ungestört in ihrem Substrat verblieben, die systemischen Chemikalien durch Gießen von je 25 ccm der wäßrigen Lösungen an zwei aufeinanderfolgenden Tagen appliziert wurden. Zu diesem Zwecke wurden *Vicia faba*-Pflanzen in 1000-cm³-Töpfen herangezogen, die humose Gartenerde bzw. nährstoffarmen Sand enthielten.

Die Ergebnisse der zytologischen Beobachtung an Wurzelspitzen, die in humusreichem Substrat (35 % Glühverlust) hoher Wasserkapazität wuchsen und zwei Tage nach der letzten Applikation fixiert wurden, sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Tabelle 4

Zytologische Wirkungen auf Wurzelspitzen von *Vicia faba* bei Zugabe von wäßrigen Lösungen von Systox, Metasystox und Pestox zu humusreichem Substrat. Auswertung 48 Stunden nach Einwirkung

Konzentration %	Systox	Metasystox	Pestox
1,0	15	13, 12, 4, 5	15
0,1	12, 3	10, 7, 3	5, 4, 3
0,01	(12), 5	(8)	2
0,001	0	0	0
0,0001	0	0	0
Kontrolle	0	0	0

Während 1 % Px und Sy auch in humosem Substrat zur Abtötung der Pflanzen führt, ist die Wirkung von MSy deutlich geringer. Zwar sind die Teilungen gestoppt, das Zytoplasma ist deplasmolysiert und die Chromosomen sind entspiralisiert; nach einigen Tagen kommt es jedoch zur Erholung der Pflanzen, die nach Ausbildung neuer Seitenwurzeln weiterwachsen. Bei 0,1 % Sy und MSy scheinen hydrolytische Prozesse im Vordergrund zu

stehen, die sich bei MSy auch auf die Zellwand auswirken: Die Mittellamellen sind angegriffen und die Zellen ausgebreitet. Das Zytoplasma ist klar und die Nukleinsäurehülle der Chromosomen korrodiert. Auffällig war, daß nach Px 0,1 % keine Erholung einsetzte, so daß eine Dauerreaktion zu beobachten war.

In einem Substrat mit stark wasserhaltender Kraft kommen schwächere Konzentrationen (unterhalb 0,001 %) nicht mehr zur Wirkung.

5. Versuchsfrage: Wie wirken sich wäßrige Brühen von Systox, Metasystox und Pestox auf das zytologische Verhalten aus, wenn die Wurzelspitzen in Sand kultiviert werden?

Die Ergebnisse der zytologischen Beobachtungen an Wurzelspitzen, die in Sand mit geringen Anteilen organischer Substanz (Glühverlust 0,5 %) wuchsen und zwei Tage nach der letzten Applikation fixiert wurden, sind in Tabelle 5 zusammengestellt.

Tabelle 5

Zytologische Wirkungen auf Wurzelspitzen von *Vicia faba* nach Zugabe von wäßrigen Lösungen von Systox, Metasystox und Pestox zu humusarmem Substrat (Sand). Auswertung 48 Stunden nach der Einwirkung

Konzentration %	Systox	Metasystox	Pestox
1,0	(15)	12, 11, 9	(15), (9)
0,1	14, **12**, 7, 3	(12), (11), (9)	(9), (3)
0,01	(3), (2)	0	(5), (1)
0,001	0	0	0
0,0001	0	0	0
Kontrolle	0	0	0

Auch in Sandboden, dessen Humusgehalt sehr gering und dessen Wasserkapazität naturgemäß klein ist, zeigt sich eine deutlich geringere Wirkung als in den wäßrigen Lösungen. Darüber hinaus ist das Bild bei verschiedenen Töpfen paralleler Konzentration uneinheitlich: Offensichtlich ist die Wirkung von der lokalen Konzentration der innertherapeutischen Substanzen in der Rhizosphäre abhängig. In Sandboden kann ein großer Teil der zugegebenen Lösungen infolge der geringen wasserhaltenden Kraft schnell und ohne eine Wirkung auszuüben abfließen. Unterhalb der Konzentrationen 0,01 % sind keine Einflüsse mehr zu beobachten. Auch bei Zugabe 1%iger Lösungen von Sy und Px kommt es nur bei einzelnen Pflanzen zur vollständigen Abtötung. An Wurzelspitzen, an denen lokal die applizierte Konzentration voll zur Wirkung kam, sind die gleichen zytologischen Bilder zu beobachten wie bei entsprechender Konzentration in Wasserkultur.

6. Versuchsfrage: Wie wirken wäßrige Brühen von Systox, Metasystox und Pestox auf die Reifeteilung in den Blütenknospen von *Vicia faba*?

Nachdem erwiesen ist, daß wäßrige Lösungen der innertherapeutisch wirksamen Stoffe einen deutlichen Einfluß auf die mitotische Teilung in den Wurzelspitzenzellen haben, prüften wir deren Wirkung auf die Meiose, die sich in den Blütenknospen bei der Entwicklung der Reproduktionsorgane abspielt. Methodisch gingen wir dabei so vor, daß die wäßrigen Lösungen verschiedener Konzentration durch den Transpirationsstrom dem apikalen Sproßende zugeleitet wurden. Dabei bedienten wir uns der von Oehlkers (1946) entwickelten Methode zur Applikation mutationsauslösender Stoffe. Sie besteht im Abspleißen der Hälfte der Sproßachse und Einführen der Lösung mit Hilfe eines seitlich angebundenen Gefäßes. 48 Stunden nach der Aufnahme der Lösungen erfolgte die Fixierung. Die Untersuchung erstreckte sich sowohl auf die Pollenmutterzellen als auch auf die Eizellen. Als Kontrollen dienten Parallelversuche mit reinem Wasser. Die Beobachtungsergebnisse sind in Tabelle 6 zusammengestellt.

Tabelle 6

Beeinflussung der Meiose von *Vicia faba* durch wäßrige Lösungen von Systox, Metasystox und Pestox. Applikation nach Oehlkers (1946). Auswertung nach 48 Stunden

Konzentration %	Systox	Metasystox	Pestox
1,0	15	**14**, 13	14, 10, **3**
0,1	(15), **4**	**5**, (3)	(12), (7), 3
0,01	(14), (4), **2**	(7)	0
0,001	3	(5)	0
0,0001	0	0	0
Kontrolle	0	0	0

Das Aufsteigen der Lösungen kann besonders eindrucksvoll infolge der blauen Färbung bei Pestox beobachtet werden. Nach 1%iger Anwendung sterben bei allen drei Substanzen die Pflanzen nach ein bis zwei Tagen ab. Dem geht eine Welke und Abfallen der Knospen voraus. Die Antheren werden bei Sy und MSy schwarz, bei Px blau. Systox in 0,1%iger Konzentration bewirkt Abtötung aller Geschlechtszellen, die deutlich stärker betroffen werden als die vegetativen Zellen. 0,01 % bewirkt noch eine schwere Spindelhemmung, außerdem sind Kern- und Chromosomen-Korrosionen zu beobachten. Metasystox hat offensichtlich einen schwächeren Einfluß, da 0,1 % nur schwache Spindelhemmung und leichte Despiralisierung der Chromosomen bewirkt. In 0,01 % MSy erscheinen die Pflanzen ungeschädigt und voll turgeszent, die Chromosomen liegen jedoch in einer Ebene. Bei 0,001 % MSy sind die Chromosomen etwas dünner und schwach granuliert. Pestox wirkt deutlich schwächer auf die Sexualzellen als vergleichbare Konzentrationen von Sy und MSy. Bei 0,1%iger Px-Lösung

erscheint das Plasma klar, gegen das sich die Chromosomen gut färberisch abheben. Plasmolyse wird nicht beobachtet, die Zellwand ist schwach plastisch. Bei 0,01 % Px ist das Wachstum äußerlich nicht beeinflußt, Pollenmutterzellen und Chromosomen erscheinen normal. Lediglich die Bivalenten sind gelegentlich leicht gespreizt.

Besprechung der Ergebnisse

Die Beeinflussung der Zell- und Kernteilung durch Chemikalien ist seit Jahren Gegenstand zahlreicher Untersuchungen. Dabei zeigte es sich, daß anorganische Salze, wie KCN, HgCl, Nitrate und Sulfate gewisser Metalle (Sr, Os, Rb) einen chromosomalen Effekt haben. Die wichtigen Alkaloide verschiedener Pflanzengruppen haben Wirkungen gezeigt, von denen die des Kolchizins die bedeutendste ist. Auch andere aliphatische und aromatische Verbindungen sind auf ihre chromosomale Wirkung hin geprüft worden (Chloroform, Benzin, CCl_4 usw.).

Als Ergebnis der Untersuchung dieser Substanzen in ihrer Wirkung auf die Chromosomen und die Kernteilung kann man eine Klassifizierung nach der Art der Schädigung vornehmen (LEVAN 1949):

1. Zerstörende Wirkung auf Kern und Chromosomen: Die Kerne korrodieren, die Chromosomen verklumpen. Bei extremen Wirkungen werden die Nukleinsäuren in Mitleidenschaft gezogen, wodurch die Chromosomen ihre Färbbarkeit teilweise oder ganz verlieren.
2. Temporäre reversible Schädigung: Nach einer gewissen Erholungszeit laufen wieder normale Teilungsvorgänge ab („recovery effect").
3. Spezifische Wirkung: Sie beeinflußt nicht den gesamten Kern-Chromosomen-Zytoplasma-Komplex, sondern nur eine der Komponenten der Zelle. So hemmt z. B. Kolchizin in niedriger Konzentration nicht das Kernwachstum, sondern inaktiviert den Spindelmechanismus. Oxychinolin hingegen wirkt nur auf das Zytoplasma.
4. Sekundäreffekte, die strukturelle Chromosomenmutationen hervorrufen können: Unter diesen finden sich solche, die ähnlich wie Ultravioletstrahlen oder Röntgenstrahlen durch ihre Sekundäreffekte schädigend auf Kernmechanismen wirken. Zu diesen sind Senfgas, Urethane, Formaldehyd u. a. zu rechnen.

Die zytologischen und chromosomalen Effekte der von uns untersuchten Substanzen sind in verschiedenen Gruppen dieser Zusammenstellung einzuordnen.

Es war zu erwarten, daß bei Versuchsbedingungen, die die Stoffe als wäßrige Brühen zur Anwendung brachten, die Effekte der verschiedenen

Konzentrationen gleichmäßig über das ganze Gewebe verbreitet sind. Außerdem lassen sich nur unter Wasserkulturbedingungen Rückschlüsse auf die Konzentrationswirkung mit einiger Sicherheit ziehen.

Die in unseren Versuchen beobachteten Schädigungen des Formwechsels der Chromosomen und der Kern- bzw. Zellteilung sind zum größten Teil in die erste Gruppe der oben angegebenen Klassifizierung einzuordnen. Vor allem in den höheren Konzentrationen kommt es zu Verklumpungen der mitotischen Chromosomen und zur Korrosion der Kerne. Vermutlich wirken die geprüften Insektizide auf die Nukleinsäuren ein und zerstören die Chromosomen- bzw. Kernstruktur. In schwachen Konzentrationen ist diese Wirkung so gering, daß die Zelle einige Zeit nach Beendigung der Gifteinwirkung den normalen Zustand wiederherzustellen vermag.

Schwache Giftwirkungen sind an leichten Verklebungen der Chromosomen festzustellen. Hierbei dürfte die Kalymma in Mitleidenschaft gezogen sein, ein Effekt, der in anderer Form auch zur Entspiralisation in der Metaphase führen kann.

Die Giftwirkung bezieht sich schließlich auch auf den Spindelmechanismus, ähnelt also einer Kolchizinwirkung. Wir beobachteten nämlich Metaphasen, in denen sich die Chromosomenhälften ohne Spindelwirkung voneinander trennten. Es scheint uns wahrscheinlich, daß die drei Insektizide die unter 4. genannten Sekundäreffekte auszulösen vermögen. Doch überwiegt offensichtlich auch in geringen Konzentrationen die schädigende Wirkung, welche den Kernteilungsablauf in hemmender bzw. zerstörender Weise beeinflußt.

Von besonderem Interesse sind die während der Untersuchung gemachten Beobachtungen über einen Erholungsprozeß bei zeitlich begrenzter Einwirkung. Von der Konzentration 0,01 % an abwärts zeigt sich nach Störung der Zellaktivität und des chromosomalen Mechanismus eine Tendenz zur Restauration, sobald die unmittelbare Wirkung der untersuchten Substanzen aufhört. Dieser Erholungseffekt („recovery effect") beweist, daß Sy, MSy und Px spezifische Chromosomengifte sind. Die Wirksamkeit ist bedingt durch die Konzentration am Wirkungsort: In 1- bis 0,1%iger Dosierung ist die Schädigung am Chromosom so groß, daß die normale mitotische Aktivität eingestellt wird und eine Regeneration nur noch bedingt möglich ist, wenn Teile des Gewebes ihre meristematische Fähigkeit behalten haben. In dieser Hinsicht ist Sy am stärksten wirksam, während MSy und Px größere Erholungschancen bieten. Temporäre C-Mitosen nach Applikation von 0,01- und 0,001%igen Lösungen werden im allgemeinen überstanden.

Die Beobachtungen über die Beeinflussung der Meiose ergaben folgendes: In den Zellen, die noch nicht oder noch nicht vollständig vakuolisiert, also am plasmareichsten sind, zeigte sich die stärkste Wirkung. Dies ergibt sich aus dem Befund, daß die antheridialen und ovarialen Gewebe

vollständig schwarz verfärbt werden, austrocknen und abortiert werden. Auch hier fand sich wieder eine Abstufung in der Wirksamkeit der Stoffe auf die Meiose in der Reihenfolge: Sy > MSy > Px. Bei 1%iger Anwendung sterben die Sprosse ab, bei 0,1 % kommt es zu schweren Korrosionen der Metaphase-I-Bivalente, nur gelegentlich zur Beeinträchtigung der Chiasmabildung und der Chromosomenbewegung. Die physiologische Störung führt zu Plastizität und Verklebung der Chromosomen.

In Humus- und Sandboden ist die Wirkung der verschiedenen Stoffe nur gering unterschiedlich. Infolge des schnellen Durchlaufens der wäßrigen Lösungen im Sand sind die betroffenen Wurzelspitzen nur einmal in direkten Kontakt mit den untersuchten Substanzen getreten. Das uneinheitliche Verhalten der Sandkultur ist erklärlich, da lokale Dichteunterschiede des Substrates die Berührung einzelner Wurzelspitzen mit der zugegebenen Präparatlösung verhindern.

Im Humusboden waren die Verhältnisse im Hinblick auf das Zusammentreffen von teilungsfähigen Geweben und Präparatlösungen infolge der größeren wasserhaltenden Kraft günstiger. Die mehr kolloidale Struktur des Bodens und die infolgedessen größere Wasserkapazität gestatteten einen intensiveren Kontakt der Wurzelregionen mit den Lösungen. Hier ist jedoch die Wirkung unterschiedlicher Konzentrationen nur gering. Spezifische Konzentrationswirkungen lassen sich infolge Verdünnung durch das Porenwasser und der Absorption an Bodenteilchen weniger beobachten.

Die Versuche in Sandkultur führen zu ähnlichen Ergebnissen wie in Wasserkultur. Ein Unterschied beruht jedoch darin, daß sich stets ein Teil der Wurzelspitzen als unbeeinflußt erweist, weil die Lösung des Therapeutikums sie nicht beim Durchfließen berührt hat. Die Schadwirkung wäßriger Lösungen von Sy, MSy und Px sind in Böden weniger stark in unseren Versuchen als bei Applikation in Wasserkultur.

Die Präparate Systox und Metasystox werden für den praktischen Gebrauch in einer Dosierung von 0,05 bzw. 0,1 % empfohlen. Unsere Untersuchungen zeigten auf, daß in den Fällen, da diese Konzentration wirklich an das lebende Plasma herangebracht wird, eine Schadwirkung auf zytologische Vorgänge nachzuweisen ist, die naturgemäß eine Herabsetzung der Fertilität zur Folge haben wird.

Für den Gebrauch der untersuchten Substanzen als Spritzmittel bzw. Gießmittel ist jedoch zu bedenken, daß bei Anwendung 0,05%iger Brühen in jedem Falle ein Verdünnungseffekt des Bodens eine bedeutsame Rolle spielt. TIETZ (1953) fand, daß die Aufnahme durch die Wurzel erheblich eingeschränkt wird durch die starke Affinität der Wirkstoffe zur aktiven Oberfläche des jeweiligen Substrates. Bei der Spritzung ist auch die stark protektive Wirkung

der Kutikularschichten zu berücksichtigen. So wird es bei der Anwendung von Spritzbrühen bzw. Gießbrühen unter genauer Einhaltung der empfohlenen Dosierung nur selten zur Erreichung der mitose- bzw. meiosestörenden Konzentration am Protoplasten kommen. Immerhin bleibt für die kommende Entwicklung der Insektizide mit interplantärer Wirkung eine Prüfung auf zytologische Wirksamkeit am Platze.

Zusammenfassung der Ergebnisse

1. In Wasserkultur zeigen sich nach 24stündiger Einwirkung von 0,001- bis 1,0%igen Systox-, Metasystox- und Pestox-Brühen starke Schädigungen an den Ruhekernen und Mitosen in Wurzelspitzen von *Vicia faba.*
2. Der Schädigungseffekt ist nicht nur konzentrationsabhängig sondern auch zeitabhängig, da 48stündige Einwirkung die Schadbilder verstärkt.
3. In hohen Konzentrationen (1 %, 0,1 %) kommt es zur momentanen Koagulation der Proteine.
4. In mittleren Konzentrationen (0,01 %, 0,001 %) wirken die genannten Stoffe spezifisch im Sinne eines Spindelgiftes.
5. Zeitlich begrenzte Einwirkung wäßriger Brühen in den Konzentrationen 0,1 bis 0,0001 % läßt die Möglichkeit einer Restauration des geschädigten Gewebes offen. Dieser „recovery effect" wird auch nach 48stündiger Einwirkung noch beobachtet.
6. Bei Zugabe der Präparatlösungen zum Boden sind die Wirkungen infolge des verdünnenden Einflusses des Bodens stark abgeschwächt.
7. Die Reifeteilung in den plasmareichen Pollenmutter- und Eizellen ist besonders empfindlich.
8. Die Präparate weisen unterschiedliche Wirksamkeit auf in der Reihenfolge: Sy > MSy > Px.

Literaturverzeichnis

Bruhin, A. und Wanner, H., 1954: Über die Wirkung von Insektiziden auf die Mitose von Pflanzen. Phytopath. Z. 22, 327—342.

Doxey, D. C., 1949: The effect of iso-propyl-phenyl-carbamate on mitosis in rye and onion. Ann. Bot. NS 13, 329—335.

Gasser, R., 1952: Über das Verhalten von selektiven Insektiziden mit Tiefenwirkung in der Pflanze. Ber. Schweiz. Bot. Ges. 62, 66—79.

Gäumann, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. Basel, 2. Aufl.

Levan, A., 1945: Cytological reactions induced by inorganic salt solutions. Nature **156**, 75.

— —, 1949: The influence on chromosomes and mitosis of chemicals, as studied by the Allium test. Proc. 8th Int. Gen. Congr. Stockholm. Hereditas Suppl. vol. 325—327.

— —, Tijo, T. and Stalfeld, 1948: The use of oxyquinoline in chromosome analysis. An. Est. Exp. Aula Dei **2**, 21.

— — and v. Wangenheim, H. K., 1952: Potassium Cyanide in the Allium Test. Hereditas **38**, 297—313.

Oehlkers, F., 1946: Weitere Versuche zur Mutationsauslösung durch Chemikalien. Biol. Zbl. **65**, 176—186.

Schrader, G., 1952: Die Entwicklung neuer Insektizide auf Grundlage organischer Fluor- und Phosphorverbindungen. Monogr. angew. Chem., Weinheim.

Tietz, H., 1954: Der mit ^{32}P markierte Diäthylthionophosphorsäureester des β-Oxyäthylthioäthyläthers (Wirkstoff des systemischen Insektizides „Systox"), seine Aufnahme in die höhere Pflanze und sein Wanderungsvermögen. Diss. Köln 1953. Höfchen-Briefe **7**, 1—56.

Unterstenhöfer, G., 1954: Probleme und Aussichten der inneren Therapie der Pflanzen. Mitt. Biol. Bundesanst. Berlin-Dahlem, H. 80, 51—63.

— —, 1954: Über die Grundelemente der inneren Therapie der Pflanze. Anz. Schädlingskde. **27**, 134—136.

Vaarama, A., 1947: Experimental studies on the influence of DDT insecticide upon plant mitosis. Hereditas **33**, 191—219.

Waeckers, W., 1954: Untersuchungen über die pflanzenphysiologische Wirksamkeit des systemischen Insektizides „Systox". Diss. Marburg 1955. Höfchen-Briefe **7**, 101—102.

Biologische Zentralanstalt der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin
Institut für Phytopathologie Naumburg (Saale)

Untersuchungen über die Blattbräune (Melanose) der Reben

Von

F. Gollmick

Mit 19 Abbildungen

Inhalt: I. Einleitung. — II. Beschreibung der Melanose. A. Äußeres Erscheinungsbild. 1. Punkt-, Flecken- oder Flächenmelanose. 2. Fiederstreifenmelanose. 3. Reibungsmelanose oder Windscheuerstellen. B. Inneres Erscheinungsbild. — III. Verhalten der Rebenarten und -sorten. — IV. Vererbungsverhältnisse. — V. Verlauf der Melanose und Einfluß der Außenfaktoren. A. Licht. B. Witterung. C. Boden und Düngung. — VI. Ätiologische Deutungsversuche. A. Parasitäre Ursachen. 1. Virosen-Abbaukrankheiten. 2. Mykosen, Bakteriosen. 3. Tierische Schädlinge. B. Unbelebte Krankheitsursachen. 1. Verbrennung durch Bekämpfungsmittel, Spritzbrühe, Rauchschäden. 2. Transpirationsschäden, Hitzeschäden, Wassermangel. 3. Ungünstige Bodenverhältnisse. 4. Mangel an Grundnährstoffen und Spurenelementen. 5. Alters- und Reifeerscheinungen. — VII. Besprechung der Ergebnisse. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

I. Einleitung

Fleckenbildung an den Blättern der Ertragsreben (*Vitis vinifera*) und an einigen Sorten der amerikanischen Unterlagsreben haben schon immer das Interesse der Anbauer erregt. Diese Fleckenbildung, die sich dem Beschauer unter den verschiedensten Formen darbietet, kann offenbar auf ganz verschiedene Ursachen zurückgeführt werden. Letzten Endes wird aber immer das Absterben einzelner Zellen oder mehr oder weniger großer Zellpartien der Blattfläche diese Erscheinung verursachen. Da es sich um eine Degeneration, also eine Abweichung vom Normalen handelt, etwas, worauf Pflanzenanbauer und -züchter immer wieder stoßen, soll nach einer Beschreibung des krankhaften Zustandes, den wir nach Küster (1929) als Nekrose bezeichnen, versucht werden, die festgestellten Beobachtungen kausal zu fundieren.

Bei dieser Blattnekrose der Rebengewächse, die als sogenannte Melanose schon mehrfach Gegenstand eingehender Untersuchungen gewesen ist, ohne daß bis heute eine Klärung über Ursache und Schaden erfolgt ist, treten im Spätsommer meist nur an den Blättern der sogenannten amerikanischen Unterlagensorten gelbbraune bis schwarze, etwa stecknadelkopfgroße Punkte

oder zusammenfließende Flecke auf, wobei ein Teil des Blattgewebes abstirbt. Bei dieser Fleckenbildung handelt es sich im Gegensatz zu den meisten Pilzinfektionen an den Rebenblättern um eine Erscheinung, die erst im Spätsommer beginnt und gegen den Herbst hin auffallend stärker wird. Aus dieser Tatsache und weil die Blattnekrosen in den einzelnen Jahren und auch an den verschiedenen Standorten bei ein und derselben Sorte unterschiedlich stark auftreten, erklärt sich, daß die Bedeutung dieser Schwarz- und Braunfleckigkeit für die Holzausreifung sehr verschieden beurteilt wird (SEELIGER, 1933).

Die ersten Beobachtungen über diese Fleckenbildung reichen bis in die Anfänge des Anbaues von amerikanischen Unterlagsrebensorten in Europa zurück. Die Melanose der Reben wurde daher auch zuerst in Frankreich bekannt und ist von dort erstmalig beschrieben worden (PLANCHON, 1882). In den letzten Jahrzehnten ist allerdings das Interesse an dieser Erscheinung merklich erlahmt, so daß die letzte zusammenfassende Veröffentlichung über den Stand der Melanosefrage aus dem Jahre 1928 stammt (MUTH). Nach den Untersuchungen SEELIGERS (1925) ist die Disposition zur Bildung dieser nekrotischen Flecke offenbar erblich. Da bei unseren für den Weinbau verhältnismäßig ungünstigen klimatischen Bedingungen jede Beeinträchtigung der Ausreifung des Unterlagenrebholzes vermieden werden muß (SEELIGER, 1933), weil hierdurch der Veredelungserfolg der Pfropfreben in Frage gestellt wird, erschien es wünschenswert, auch dieses Problem noch einmal aufzugreifen.

Die älteren französischen Forscher haben alle Blattfleckenerscheinungen der Rebe unter dem Sammelbegriff „Anthracnose" zusammengefaßt. Nach eingehenden Untersuchungen von BOUCHARD (1881) handelt es sich bei der echten Anthracnose um eine Pilzkrankheit, die durch den von DE BARY (1884) beschriebenen Pilz *Sphaceloma ampelinum* verursacht wird. Das außerordentlich dünne Myzel breitet sich auf der Epidermis aus, soll auch in das Innere der Gewebe eindringen und dort massenhaft Sporen erzeugen. Am häufigsten befallen werden offenbar die jungen Triebe. Auf den Blättern, Ranken, Blütenknospen und später auch auf den Beeren ist der Pilz ebenfalls beobachtet worden. Regnerisches, warmes Wetter soll für die Ausbreitung dieses Schädlings sehr förderlich sein. Heute sind diese und auch manche andere Pilzkrankheiten der Reben wohl zunächst verschwunden, weil sie wegen der intensiven Bekämpfung der Plasmopara nicht aufkommen können. Vielleicht sind auch die verhältnismäßig niederen Temperaturen unserer Breiten für die Entwicklung dieser Pilzkrankheiten, da die Unterlagsrebensorten normalerweise nicht gespritzt werden, ungeeignet. Von dieser Anthracnose sind dann nach und nach einige besonders gekennzeichnete Krankheitserscheinungen abgegrenzt worden, ohne daß in jedem Falle immer eindeutig ein Erreger oder eine kausale Beziehung zu äußeren Faktoren festgelegt werden konnte. Zunächst abgetrennt wurde eine Krankheitserscheinung, die von den Amerikanern als „Black Rot" bezeichnet wurde (VIALA und RAVAZ, 1886).

Hierbei handelt es sich um eine Fleckenkrankheit, die nach RATHAY (1891) in der Regel junge, aber auch ausnahmsweise erwachsene Blätter befällt. Sie tritt in Form runder Flecke von 2 bis 3 mm Durchmesser auf, die scharf begrenzt und häufig über die ganze Blattfläche verstreut sind. Sie sind stets auf beiden Blattseiten sichtbar, das ihnen zugehörige Gewebe ist vertrocknet und abgestorben.

Später hat PLANCHON (1882) aus dem Sammelbegriff der Anthracnose, der nach THÜMEN (1881) oft mißbraucht worden ist, weil darunter alles mögliche verstanden wurde, die sogenannte „punktförmige Anthracnose" abgegliedert und ihr auch die Bezeichnung „Melanose" gegeben. Allerdings hat PLANCHON niemals besondere Untersuchungen über Natur und Charakter dieser Krankheit veröffentlicht (VIALA, 2. Aufl. 1887). Erst VIALA und RAVAZ (1886 bis 1887) haben dann den Pilz *Septoria ampelina*, den BERKELEY (1865) schon früher auf den Blättern von *Vitis vulpina (riparia)*, *V. rotundifolia* und *V. vinifera* in Texas und Carolina (USA) gefunden und beschrieben hatte, als Erreger dieser punktförmigen Anthracnose ausführlich beschrieben. Bei einer Beobachtungsreise durch die USA

fanden beide Verfasser diese Melanose vor allem in den wärmeren Gebieten dieses Landes, während sie in den nördlicheren Gegenden nicht beobachtet werden konnte (VIALA und RAVAZ, 1887). Für Europa stellten sie fest, daß die Melanose sich überall dort findet, wo wilde amerikanische Rebenarten kultiviert werden, und daß die Krankheit vor der Einführung der amerikanischen Wildreben nicht gefunden wurde. Sie vermuteten daher, daß diese Blattfleckenkrankheit amerikanischen Ursprungs sei.

Nach dem von VIALA und RAVAZ angegebenen Krankheitsbild greift die Melanose nur die Blätter der Reben an, und zwar nur das Blattparenchym, während die Blattnerven niemals befallen werden. Ebenso konnte auf den Lotten und den Früchten der Reben niemals ein Auftreten dieser Schwarzfleckigkeit beobachtet werden. Als erstes Anzeichen der Melanose erscheinen auf beiden Blattflächen zunächst kleine, punktförmige Flecke von brauner bis fahl roter Färbung. Sie haben 0,5 bis 1 mm im Durchmesser, sie sind kreisförmig, erscheinen in der Mitte leicht ausgehöhlt und gegen den Rand leicht erhaben. Diese Flecke sind entweder etwas größer und wenig zahlreich, oder kleiner und von beträchtlicher Anzahl, so daß die Blätter wie fein gespritzt erscheinen. Die Folgen für das Blatt in diesem Stadium sind ohne Bedeutung, aber dabei bleibt es nicht. Später wachsen diese punktförmigen Flecke ziemlich schnell, vereinigen sich miteinander und bilden unregelmäßig gestaltete Flecke mit einem Durchmesser von 0,5 bis 1 cm. Oft sind sie durch die letzten Ausläufer der Nervenendigungen begrenzt und dringen darüber hinaus nicht in das gesunde Blattgewebe vor. VIALA und RAVAZ haben in ihrer Monographie über die Melanose sehr ausführlich über den Erreger dieser Krankheitserscheinung berichtet. Auf der Ober- und Unterseite der Blattflecke fanden sie Sporenbehälter (Pyknidien?) des Parasiten, die, von kugeliger Gestalt, fast vollständig in das Blattgewebe eingesenkt und von einer dunkelbraunen Wand umgeben sind. Die Pyknosporen sind farblos, fadenförmig, meist leicht gekrümmt und durch zarte Querwände in vier bis acht Zellen aufgeteilt. Es gelang leicht, diese Sporen in Wasser oder auf künstlichem Nährboden zum Keimen zu bringen. Auf Erbsendekokt-Agar erbrachten sie nach einigen Wochen kleine Kolonien, die aber nur begrenztes Wachstum aufwiesen. Die Inkubationszeit bis zum Auftreten der winzigen punktförmigen Flecke beträgt nach diesen Autoren bei *Vitis riparia sauvage* sechs Tage, während das Auftreten der Pyknidien nach etwa zwanzig Tagen zu beobachten war.

RATHAY (1891) stellte bei seinen Nachforschungen über die Rebenkrankheit „Black Rot" in Österreich fest, „von Pilzkrankheiten fand ich nur die unschädliche Melanose, und zwar ausschließlich auf *Vitis rupestris*".

BEHRENS (1905) wies nun als erster darauf hin, daß die in Deutschland vielfach beobachtete Melanose der Reben nicht durch einen Erreger verursacht wird, sondern vermutlich eine physiologische Krankheit darstellt, die vor allem die einzelnen Sorten der Rebenart *Vitis vulpina* (*riparia*) besonders stark befallen kann. Nach seinen Untersuchungen waren aus den durch Absterben einzelner Blattpartien dunkel gefärbten Blattflecken nur hin und wieder harmlose Saprophyten, niemals aber der in Frankreich und in den USA als Erreger der Melanose angesehene *Septoria ampelina* nachzuweisen. BEHRENS schlug deshalb vor, für diese der echten infektiösen Melanose außerordentlich ähnlichen Krankheit einen anderen Namen zu wählen, was sich leider in der Folgezeit nicht durchgesetzt hat.

Auch spätere Untersucher, wie SCHMITTHENNER (1908) und KROEMER (1908 und 1918), kamen auf Grund ihrer sehr gründlichen Untersuchungen zu dem Schluß, daß es sich bei dieser Blattfleckenbildung der Reben nicht um eine Pilzkrankheit handelt, denn es gelang ihnen ebenfalls niemals, *Septoria ampelina* oder einen anderen Erreger auf den gefleckten Blättern nachzuweisen. Beide Autoren, wie auch ZEISSIG und SEUFFERHELD (1905)

und MUTH (1928), halten diese Melanose für eine Folge von Transpirationsstörungen oder Störungen im Safttrieb oder im Stoffwechsel allgemein.

KOTTE (1930) dagegen hat die echte Melanose der Reben Mitte August in Mittelbaden festgestellt und sie sehr richtig als „infektiöse Melanose" bezeichnet. Er hat damit die infektiöse Melanose der ähnlich aussehenden Blattfleckenkrankheit, die offenbar auf physiologischen Störungen beruht, gegenübergestellt. Seine Untersuchungen an Blättern der Taylor-Rebe ergaben, daß tatsächlich der Pilz *Septoria ampelina* Berk. et Curt. die Ursache dieser Blattfleckenkrankheit war. Die Beschreibung des Krankheitsbildes und der weiteren Ausbreitung sowie die Angaben über den Pilz selbst stimmen völlig mit denen von VIALA und RAVAZ überein.

Danach handelt es sich also bei der Blattfleckenkrankheit, der Melanose der Reben, offensichtlich nicht um eine einheitliche Erscheinung. Die in Deutschland so häufig an den amerikanischen Unterlagsreben beobachteten Blattflecke sind also etwas ganz anderes als die aus Frankreich meist von Kultursorten beschriebene *Septoria*-Krankheit. Allerdings ist die von BABO und MACH (1924) gemachte Angabe, daß die Melanose amerikanischen Ursprungs ist und auch nur Amerikanerreben befällt, nur zum Teil richtig, denn schon VIALA und RAVAZ (1887) teilen mit, daß die Melanose an allen Rebenarten gefunden wird, wenn auch *Vitis riparia* und *Vitis rupestris* offenbar mehr befallen werden und die Schäden hier beträchtlicher sind als auf anderen Amerikanerreben (MARSAIS 1906). Wie wir später noch sehen werden, besteht im Melanose-Befall kein grundsätzlicher Unterschied zwischen den Sorten von *Vitis vinifera*, also der Kulturrebe, und den amerikanischen Wildformen oder deren Bastarden.

Man wird also in Zukunft ganz klar zwischen der echten Melanose, d. h. der von den Franzosen beschriebenen *Septoria*-Blattfleckenkrankheit, und der falschen Melanose, die ich als Blattfleckennekrose physiologischen Ursprungs bezeichnen möchte, zu unterscheiden haben (siehe auch KROEMER 1918, MUTH 1928 und KOTTE 1930). Leider ist diese scharfe Unterscheidung bei früheren Beschreibungen der Fleckenbildung nicht immer genügend beachtet worden (BABO und MACH 1924, Weinbaulexikon 1930), was zu mancherlei Irrtümern Anlaß gegeben hat. Sehr auffällig ist es nun, daß die Beschreibungen der Krankheitssymptome für beide Formen der Melanose fast völlig gleichlauten. Es erscheint daher der Verdacht nicht ganz unbegründet, daß schon bei dem ersten Beobachtungsmaterial von VIALA und RAVAZ ein Gemisch beider Krankheitserscheinungen vorgelegen hat. Besonders deutlich geht das aus den Ausführungen von MARSAIS (1906) hervor, der noch drei verschiedene Pilze, unserer Ansicht nach, für das gleiche Krankheitsbild verantwortlich machen will. Es handelt sich ja bei der infektiösen Melanose, genau wie bei der falschen Melanose, um eine ausgesprochene Spätsommerkrankheit.

Es muß an dieser Stelle auch noch auf eine andere häufig untersuchte Blattkrankheit der Reben hingewiesen werden, die Blattbräune, Braunfleckigkeit oder Brunissure. Diese Blattfleckenkrankheit hat sicherlich zu

der falschen Melanose ganz enge Beziehungen. (Siehe auch Weinbaulexikon 1930.) Das äußere Erscheinungsbild dieser Brunissure scheint zwar von der so oft als typisch bezeichneten Punktmelanose sehr verschieden zu sein, wie sich aber später noch ergeben wird, ist das mikroskopische Schadbild außerordentlich ähnlich, wenn nicht sogar gleich. Verf. steht daher nicht auf dem Standpunkt wie einige Autoren, daß die Blattbräune nur fälschlich als Melanose bezeichnet wird, denn es besteht offenbar zwischen der falschen Melanose und der Blattbräune ein kontinuierlicher Übergang.

Die Blattbräune oder Brunissure ist zuerst in Frankreich beobachtet worden, wo sie ebenfalls sehr eingehend untersucht wurde. Es handelt sich vornehmlich um eine Krankheit der Kultursorten, die aber auch auf den amerikanischen Rebenarten und deren Bastarden beobachtet worden ist. Sie steht wiederum in enger Beziehung zu der sogenannten Kalifornischen Krankheit, maladie de Californie, die Ende des vorigen Jahrhunderts viele Untersucher auf den Plan gerufen hat. Auch hier werden nach den Angaben der Literatur nur die Blätter befallen. Bei der sogenannten Brunissure entstehen auf der oberen Blattfläche im Juli oder August unregelmäßige, hellbraune, einige Millimeter umfassende Flecke mit scharf abgegrenzten Rändern, die zwischen den Nerven liegen. Nach und nach vergrößern sich die Flecke, so daß, mit Ausnahme der äußeren Ränder und der Nervatur, die ganze obere Blattfläche dadurch eingenommen wird. Dabei bleibt die untere Fläche noch vollkommen normal. Schließlich wird aber das ganze Blatt von dieser Fleckenbildung erfaßt (Viala und Sauvageau 1892, Debray 1894 und 1898, Ravaz 1903, 1904). Die Erkrankung beginnt stets an den untersten Blättern. Das erkrankte Laub vertrocknet unter Einschrumpfen und fällt vorzeitig ab. Wenn diese Fleckenbildung auch anfangs nur auf Ertragsreben in Frankreich und von den gleichen Verfassern auch in Amerika beobachtet wurde, konnte später festgestellt werden, daß auch die wilden amerikanischen Sorten davon betroffen werden.

Zeitlich anschließend wurde diese Brunissure auch im deutschen Weinbaugebiet (Moritz und Busse 1894 und in Italien Cavara 1894) beobachtet. Bei der bereits erwähnten Kalifornischen Krankheit, die von Viala und Sauvageau vor allem auch in Kalifornien selbst untersucht wurde, ist zwar das Erscheinungsbild etwas anders beschrieben, aber die Angaben widersprechen sich.

In ein neues Stadium traten die Untersuchungen an diesen beiden Blattkrankheiten, als Viala und Sauvageau (1892 c) und Debray (1895) glaubten festgestellt zu haben, daß diese beiden Krankheiten durch einen Myxomyceten, den sie *Plasmodiophora vitis* bzw. *Plasmodiophora californica* nannten, verursacht wird. Unverständlicherweise wurden die ersten Untersuchungen über diesen Myxomyceten nur an getrocknetem Herbarmaterial durchgeführt und nach verschiedenen Manipulationen (Behandlung mit Eau de Javelle) dann der Schleimpilz, vor allem in den Palisadenzellen der fleckigen Blätter, aufgefunden. Auch Moritz und Busse (1894) glaubten, in frischem Rebmaterial aus Rheinhessen diesen Myxomyceten gefunden zu haben. Die Abbildungen, die von allen vier Autoren gegeben werden, ähneln außerordentlich den Bildern, die man bei Querschnitten von Blättern erhält, die von der falchen Melanose befallen sind.

Gegen dieses Vorhandensein eines Myxomyceten in blattfleckenkranken Blättern nahmen zuerst Cavara (1894) und Massee (1895) und später Behrens (1899) scharf Stellung. Sie wiesen nach, daß es sich bei dem angeblichen Myxomyceten, bei dem auch niemals eine der für diese Gruppe charakteristischen Sporenbildung festzustellen gewesen war, um humifizierte braune Inhaltsreste toter Zellen handelt, wie man sie auch in Zellen findet, die aus allen möglichen Ursachen abgestorben sein können. Damit war die Existenz eines besonderen Krankheitserregers für diese Blatterscheinung abgetan.

In späteren Arbeiten hat Ravaz diesen seinen Irrtum anerkannt (Ravaz 1904, siehe auch bei Molz 1906) und berichtigt und hat nun andere, d. h. physiologische Ursachen für das Auftreten der Brunissure angenommen. Seine Ansicht wurde auch besonders durch Untersuchungen Ducomets (1900 und 1904) bestätigt.

Wie wir gesehen haben, ist also der Krankheitsbegriff der Melanose der Reben nicht immer einheitlich aufgefaßt worden. Ebenso gehen die Meinungen darüber, ob diese Erscheinung als schädlich anzusehen ist oder nicht, sehr auseinander. Da mir bei meinen Untersuchungen an lebendem Material immer nur die falche Melanose und niemals die infektiöse Melanose vorgelegen hat, denn in keinem einzigen Fall hat sich auch nur der geringste Anhaltspunkt für das Auftreten eines Parasiten ergeben, werde ich also in der vorliegenden Arbeit nur über diese falsche Melanose zu berichten haben.

Die früheren Beobachter haben schon zeigen können, daß diese Blattfleckennekrose bei den einzelnen Rebensorten sowohl in den einzelnen Jahren als auch unter den verschiedenen Standortsbedingungen sehr verschieden stark auftreten kann. Wenn man dann weiter bedenkt, daß auch das Alter der Stöcke eine beachtliche Rolle bei der Befallsstärke spielt und außerdem bisher kein Mittel bekannt ist, das dieses nekrotische Absterben einzelner Blattpartien verhindert, erschien es notwendig, mehrjährige Bewertungen an einem möglichst großen Sortiment und, soweit möglich, auch an verschiedenen Standorten durchzuführen. Da wir bei dem Auftreten der falschen Melanose einmal mit erblichen, dann auch stark mit Umweltfaktoren zu rechnen haben, wurden mehrere Jahre lang in den Naumburger Sortensammlungen und Sämlings-Muttergärten umfassende Beobachtungen über Art und Stärke des Melanosebefalles durchgeführt, die die richtige Sortenwahl bei der Neuzüchtung von Unterlagen und Edelhybriden ermöglichen und die Klärung der Erblichkeitsverhältnisse fördern sollten.

Im Hintergrund stand natürlich das Ziel, die Ursachen dieser eigentümlichen nichtinfektiösen Anomalien im Entwicklungsablauf der Blätter zu ergründen, denn für den Phytopathologen ist die Beschreibung krankhafter Zustände erst dann wertvoll, wenn es gelingt, die Beobachtungsergebnisse kausal zu fundieren. Gleiches gilt nach KAUSCHE (1937) für den Züchter, der beim Auftreten solcher Anomalien zu entscheiden hat, ob es sich um eine erblich bedingte Abwandlung von der Norm mit einer bestimmten Entwicklungstendenz handelt, oder ob hier nur Modifikationen vorliegen, die durch irgendwie den Pflanzen in bestimmten Entwicklungsstadien abträgliche Umweltbedingungen hervorgerufen werden.

II. Beschreibung der Melanose

A. Äußeres Erscheinungsbild

In der Einleitung wurde schon hervorgehoben, daß zwischen dem äußeren Erscheinungsbild der „infektiösen Melanose", die wir als echte Melanose bezeichnen wollen, und der physiologisch oder konstitutionell bedingten „falschen Melanose" offenbar kein großer Unterschied besteht. Schon SCHMITTHENNER (1908) fand es merkwürdig, daß die äußeren Merkmale der von VIALA und RAVAZ beschriebenen „infektiösen Melanose" und die Symptome der in Deutschland aufgetretenen, offensichtlich nicht parasitären Melanose

sich vollkommen decken. Ebenso wurde bereits darauf hingewiesen, daß zwischen der typischen Punktmelanose und der Brunissure ein kontinuierlicher Übergang besteht, so daß vermutet wurde, daß beide Erscheinungen nicht voneinander zu trennen sind.

Abb. 1 (links oben). *Riparia* G. 1., beginnende Punktmelanose. Häufung der Nekrosen interkostal

Abb. 2. (rechts oben). *Labrusca* × *Riparia* G. 170., Punktmelanose, die mehr oder weniger gleichmäßig die ganze Blattspreite ergriffen hat

Abb. 3 (links unten). M. G. 101—14 × C. 1616 Offenau 5 J, beginnende Punktmelanose in der Nähe der Hauptnerven

Betrachten wir zunächst das äußere Erscheinungsbild dieser Blattfleckennekrose, so können wenigstens drei Hauptformen unterschieden werden:

1. Punkt-, Flecken- oder Flächennekrose

Diese Erscheinung beginnt damit, daß in den Laubblättern einige Zeit vor oder zu Beginn des herbstlichen Abbaues, d. h. also im Spätsommer, kleinere oder größere Teile des Blattgewebes absterben und eine braune Färbung annehmen. Die abgestorbenen Gewebeteile machen sich in Form von 1/2 bis 1 mm großen, punktförmigen, d. h. also mehr oder weniger kreisförmigen, aber scharfrandigen Flecken auf beiden Seiten des Blattes bemerk-

bar. Die Oberseite wird zumeist früher und stärker von dieser Erscheinung betroffen. Diese dunkelbraunen bis schwarzen punktförmigen Flecke verteilen sich meist ziemlich gleichmäßig über die Blattspreite; der Blattstiel und die Blattnerven werden hiervon nur selten betroffen. Beim ersten Sichtbarwerden

Abb. 4 (links oben). *Riparia* × *Rupestris* 3 H. G., Fleckenmelanose im Spätherbst an einem Geiztrieb

Abb. 5 (rechts oben). *(Berlandieri* × *Riparia* Tel. G.) × *(Berlandieri* × *Riparia* 157—11) Punktmelanose, die in Fleckenmelanose übergeht

Abb. 6 (links unten). *Riparia* G. 69. Interkostale Punktmelanose, die später in Fleckenmelanose übergeht

der Flecke hat man den Eindruck, als wenn das Blatt mit einer ätzenden Flüssigkeit gleichmäßig überspritzt worden wäre. Auf der Oberseite der Blätter erscheinen die Flecke stets dunkler als auf der Unterseite. Es ist dies aber wohl eine optische Täuschung, weil die Oberfläche an sich ein satteres Grün aufweist als die Blattunterseite. Als typisches Beispiel für diese Punktmelanose (dieser charakteristische Ausdruck ist nach MUTH [1928] von Weinbauinspektor FUESS geprägt worden) gilt die Unterlagensorte *Riparia G.* 1 (Abb. 1). Die Flecke treten meist zuerst in den Mittelpartien zwischen den Haupt- und stärkeren Seitennerven auf und verbreiten sich später von da

gegen die Nerven hin, bis schließlich die ganze Blattfläche davon ergriffen ist (Abb. 2). Bei anderen Rebensorten, z. B. M. G. 101—14 × C. 1616 Offenau 5 J., bei der ebenfalls typische Punktmelanose auftritt, häufen sich die Flecke mehr in unmittelbarer Nähe der Nerven I und II (Abb. 3).

Abb. 7. *Riparia Gloire de Montpellier.* Anfängliche Punktmelanose, geht schließlich in völlige Bräunung der Blattspreite über

Abb. 8. *Berlandieri—Riparia* Tel. C. Typische Flächenmelanose, die älteren Blätter erscheinen oberseits vollkommen dunkel gefärbt

Wenn bei weiterer Fortentwicklung dieses Absterbeprozesses die mehr oder weniger punktförmigen Flecke sich vergrößern und neue hinzutreten, kommt die Erscheinung zustande, die Fuess als Fleckenmelanose gekennzeichnet hat (Muth 1928). Hierbei verschmelzen die einzelnen punktförmigen Nekrosen zunächst zu größeren Flecken (Abb. 4 bis 6), so daß schließlich große Teile der Blattspreite eine gleichmäßig braune Farbe annehmen (Abb. 7 und 8). Auch hier wieder bleiben die Haupt- und Seitennerven I. und II. Ordnung meist davon frei. Die Blattfläche wird aber schließlich brüchig und zerfällt. Ganz besonders charakteristisch tritt uns diese Fleckenmelanose des späten Stadiums bei Riparia × Rupestris M. G. 108 entgegen. Natürlich kommen bei den einzelnen Sorten und auch an ein und demselben Stock, je nach dem Alter der Blätter, alle möglichen Übergänge vor, so daß die einzelnen Melanosetypen nicht immer klar zu trennen sind.

Bei anderen Rebensorten, sehr häufig bei den meisten reinen Arten von *Vitis rupestris*, aber auch bei Bastarden mit *V. rupestris*, treten die nekroti-

Abb. 9 (links oben). *Rupestris Dern.* × *Rupestris Ganzin* Na 1192—19. Typus der *Rupestris*-Melanose

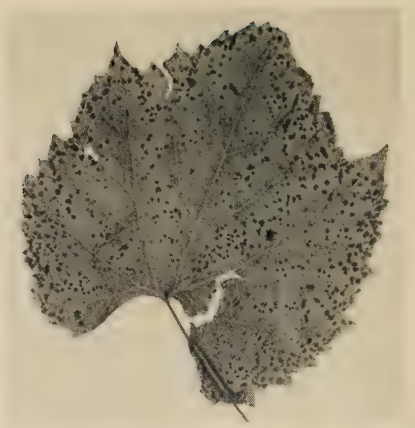


Abb. 10 (rechts oben). *Riparia* × *Rupestris* G. 81. Typus der *Rupestris*-Melanose, aber nicht rein

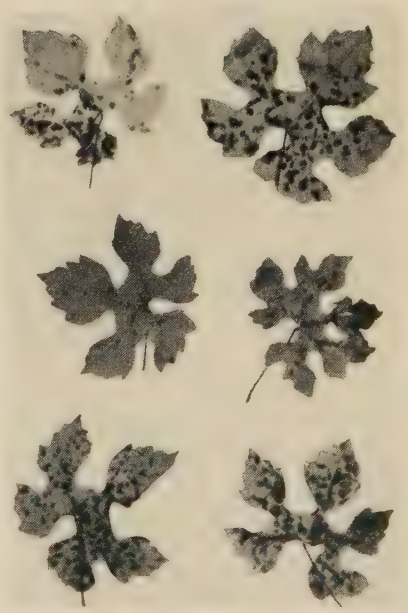


Abb. 11 (rechts unten). Sämling aus einer Selbstungsfamilie *Rupestris* × *Cabernet, Hybride Franc.* Typus der *Rupestris*-Melanose

schen Flecke ziemlich zerstreut auf den Blättern auf. Sie nehmen schnell an Größe zu, um dann bis zum vollständigen Absterben der Blätter in diesem Größenzustand zu verharren, ohne daß es zu noch größerer Fleckenbildung kommt. Wir haben diesen Typus den Rupestris-Typ genannt (Abb. 9 bis 11).

Diese geschilderten, lokal begrenzten Absterbeerscheinungen der Blätter beginnen im Sommer bei den untersten ausgewachsenen Blättern der Triebe und schreiten allmählich spitzenwärts fort. Erst im Herbst, wenn die Wuchskraft der Triebe nachläßt, zeigen manchmal auch die nicht ausgewachsenen Blätter der Triebspitzen und der Geize, vor allem die Geize der untersten

Triebteile, diese Fleckenbildung (Abbildung 12). Auf diesen Verlauf der Fleckenbildung innerhalb des Stockes wird später noch einzugehen sein. Vielfach kann man bei einigen Sorten in manchen Jahren auch feststellen, daß die Nekrosebildung in Form der Punkt- oder Fleckenmelanose wie üblich bei einigen älteren Blättern beginnt, daß dann aber diese Erscheinung nicht weiter fortschreitet und die übrigen Blätter im Herbst vergilben und abfallen, ohne daß weitere Nekrosen aufgetreten sind.

Abb. 12. *Riparia* G. 1. Punktmelanose im Spätherbst an einem Geiztrieb. Fleckenbildung nimmt von der Basis nach der Spitze zu ab (siehe auch Abb. 4)

2. Fiederstreifenmelanose

Bei dieser Form der spätsommerlichen oder herbstlichen Fleckenbildung treten größere kreisförmige, elliptische oder mehr oder weniger gewundene braune Flecke auf, die gesetzmäßig zwischen den Seitennerven erster Ordnung verteilt und zugleich mit den Verfärbungszonen des im herbstlichen Abbau begriffenen Laubblattes eine regelmäßige, meist eigenartige und schöne Zeichnung bedingen (Abb. 13 bis 15). Die in den Abbildungen erkennbaren bogig begrenzten Teile der Interkostalfelder sind auf diesem Stadium bereits abgestorben und heben sich hellbraun von den übrigen normal grünen Teilen des Blattes ab. Einzelne abgestorbene Teile sind bereits herausgebrochen.

Diese sogenannte Fiederstreifenmelanose tritt meist nur an den älteren Blättern in Erscheinung und geht im Herbst nur bis zur halben Höhe der Stöcke. An den jüngeren Blättern der Triebspitzen und Geiz-

Abb. 13. *Riparia* G. 74. Typische Fiederstreifenmelanose

Abb. 14 (links). *Vinifera-Rupestris* Ganz. × *Vinifera* C. 199—88. Typische Fiederstreifenmelanose

Abb. 15 (rechts). *Riparia Millardet semis.* Typische Fiederstreifenmelanose

triebe konnte sie niemals beobachtet werden. Sie tritt auch meist nicht sehr stark auf, fällt nur wegen der eigenartigen Zeichnung auf den Blattflächen besonders ins Auge.

Abb. 16. *Riparia Millardet* × *Gamay noire*, Oberlin 605. Anthozyanbildung auf der Blattspreite, die in ihrer Form der Fiederstreifenmelanose entspricht

Eine dieser Fiederstreifenmelanose sehr ähnliche Erscheinung beobachtet man bei einigen rotverfärbenden Vitissorten. Es handelt sich dann aber zu-

nächst nicht um einen Absterbeprozeß einiger Blattpartien, sondern um das Auftreten von Anthozyan, wie es für manche Formen charakteristisch ist. Bei diesen Sorten verfärbt sich aber nicht wie bei den typischen rotverfärbenden Formen die ganze Blattspreite rot, sondern nur die Interkostalfelder (Abb. 16). Extrahiert man die Farbstoffe dieser Blätter mit heißem Alkohol, so erkennt man, daß auch hier genau in der Mitte zwischen den Hauptnerven ebenfalls eine beginnende Nekrotisierung der Zellen eingesetzt hat. Die Spitzenblätter bleiben auch im Spätherbst frei von dieser Erscheinung.

Tritt die Fiederstreifenmelanose mit der Punkt- oder Fleckenmelanose am gleichen Stock auf, so erstrecken sich die punktförmigen Nekrosen über einen erheblich größeren Triebteil als die Fiederstreifenmelanose. Diese Art der Fleckenbildung zeigt sich besonders charakteristisch bei der früher vielfach als Unterlage benutzten Sorte Riparia Gloire de Montpellier. Auch die Sorten Riparia G. 1, Riparia × Rupestris M. G. 101—14 und Couderc 1616 zeigen die gleiche Erscheinung.

3. Reibungsmelanose oder Windscheuerstellen

Diese Erscheinung tritt dann auf, wenn ein Blatt, meist mit der Blattspitze, im Luftstrom bewegt, die Blattspreite eines anderen Blattes dauernd reibt. Auch hierbei tritt eine Fleckenbildung auf, die sich aber deutlich von den übrigen Melanosebildern unterscheidet und schon durch die Form der Flecke auf den Ursprung hinweist (Abb. 17). Es handelt sich um dunkle, meist mehr oder weniger unscharfe, bänderartige, oft bogig verlaufende Flecke. Anfangs erscheinen diese Stellen etwas heller als die Umgebung der Blattspreite, um später mehr oder weniger dunkelbraune Färbung anzunehmen. Der Ausdruck Reibungsmelanose ist von Seeliger geprägt worden, obwohl diese Fleckenbildung eigentlich mit der bisher beschriebenen Melanose nichts gemein hat.

Abb. 17. Trollinger × *Riparia* G. 51. Reibungsmelanose oder Windscheuerstelle

Derartige Beschädigungen von Blattspreiten durch Reibung sind auch von anderen Pflanzen bekannt. Sie wurden von Caspary (1869) und Bethge (1942) in allerdings etwas anderer Form bei Roßkastanienblättern beobachtet und als Windscheuerstellen bezeichnet.

Diese sogenannte Reibungsmelanose tritt in der hier abgebildeten Form nicht gerade sehr häufig auf, es scheinen aber doch einige Sorten besonders dazu zu neigen. Ob dies eine eigentümliche Reaktion der betreffenden Sorte auf die dauernde Reibung ist, oder ob die Blattspitze bzw. die Enden der Blattlappen hier infolge einer besonderen Struktur verantwortlich sind, läßt sich nicht sagen. Es ist ja bekannt, daß die Blätter vieler Sorten der amerikanischen Wildart *Vitis vulpina* (*riparia*) und deren Bastarde eine sogenannte Träufelspitze besitzen, die man übrigens auch bei vielen anderen Pflanzen mit Lianencharakter gefunden hat und die mit RACIBORSKI (1900) als „Vorläuferspitze" bezeichnet werden. Bei derartigen Blattformen sind die Spitzen und manchmal auch die Enden der Blattlappen in eine mehr oder weniger lange, harte Spitze ausgezogen, die nach STAHL (1893) dazu dienen soll, das Regenwasser möglichst schnell ablaufen zu lassen.

B. Inneres Erscheinungsbild

Die histologischen Veränderungen in den Blättern, die die nekrotischen Flecke der falschen Melanose gezeigt haben, zeigen grundsätzlich das gleiche oder ein ähnliches Bild, wie es schon von anderen Blattnekrosen her, ganz gleich, was deren Ursache sein mag, bekannt ist. Die melanotischen Blätter wurden nach den in der mikroskopischen Technik üblichen Methoden, zum Teil an Handschnitten, zum Teil als Mikrotomschnitte nach Paraffineinbettung untersucht, wobei die einzelnen Blattstadien von Beginn der Fleckenbildung bis zum absterbenden Blatt einer eingehenden Prüfung unterzogen wurden. Besonderes Augenmerk wurde natürlich darauf gerichtet, ob irgendwelche Mikroorganismen als Ursache für diese Nekrotisierung festzustellen sind.

An Querschnittsbildern durch Blätter, bei denen die Fleckenbildung eben beginnt, erkennt man, daß die Degeneration, die an der Braunfärbung des Zellinhaltes kenntlich ist, sich zweifellos in den chlorophyllführenden Mesophyllzellen zuerst bemerkbar macht. Vielfach sind es, wie Flächenschnitte zeigten, nur eine einzige Zelle oder kleinere zusammenhängende Zellkomplexe, die zuerst diese Degeneration zeigen. Besondere Orte im Blattgewebe scheinen hierfür nicht vorbestimmt zu sein, weil die Degenerationskomplexe wahllos zerstreut ohne erkennbare Beziehungen zu den Nerven oder Nervenendigungen erscheinen. In den allermeisten Fällen scheint der Absterbeprozeß in den Palisadenzellen zu beginnen. Es ist aber bei fortschreitender Nekrotisierung auch festgestellt worden, daß gerade die Schließzellen als erste den gebräunten Zellinhalt aufweisen, während das umliegende Gewebe noch lebensfrisch erscheint. Eigentümlich ist die Tatsache, daß tote Zellen direkt an lebend erscheinende Zellen angrenzen. Eine Feststellung übrigens, die auch SORAUER (1903, 1904) bei seinen Untersuchungen an rauchgeschädigten Getreidepflanzen machte.

Diese also offenbar von den Palisadenzellen ausgehende Nekrotisierung ergreift nun im Blattparenchym Zelle um Zelle, sowohl das Schwammparenchym unterhalb der Palisadenzellen als auch die Epidermiszellen zunächst

der Oberseite, später auch der Blattunterseite. Nachdem die Epidermiszellen, die über den nekrotischen Palisadenzellen zunächst längere Zeit normal bleiben, ebenfalls abgestorben sind, sinken sie zusammen. Gemeinsam mit dem gebräunten Zellinhalt ist nun der lichtbraun eingesenkte Fleck, der im Blatt erscheint, fertig. Irgendwelche Veränderungen, Zellteilungen oder Wucherungen der angrenzenden gesunden Zellelemente, wie sie z. B. Correns (1912) bei der Untersuchung der Sordago-Krankheit bei *Mirabilis jalapa* beobachtet hat, konnten bei den Vitisblättern niemals festgestellt werden.

Die Veränderungen im Zytoplasma bei diesem Absterbeprozeß scheinen von den Chloroplasten selbst auszugehen. Man erkennt in den Zellen nur eine braune, tröpfchenförmige Masse (Reifetropfen nach Sorauer 1903), in der vielfach noch größere abgerundete Körner liegen, die sich mit Chlorzinkjod bläulich färben. Es handelt sich hierbei wohl um die Reste von Stärkekörnern, die in den zerstörten Chloroplasten erhalten blieben. Die dunkelbraunen Klumpen des abgestorbenen Plasmas lassen sich weder durch starke Säuren noch durch Alkalien beeinflussen, nur mit Hilfe von starken Oxydationsmitteln — Eau de Javelle — ist eine leichte Aufhellung zu erzielen, ohne daß aber dadurch neue Einzelheiten erkennbar werden. Bei der Behandlung mit Eisensalzen tritt eine tiefschwarze Färbung ein, was auf das Vorhandensein von Gerbstoffen schließen läßt. Ähnliches Auftreten von dunkelbraunen Substanzen findet man ja bei vielen Krankheitserscheinungen, bei denen absterbende oder abgestorbene Zellen auftreten, z. B. beim Befall der Kartoffel mit *Phytophthora* (Meyer 1943).

Die Versuche, verhältnismäßig dicke Schnitte mit basischen Vitalfarbstoffen anzufärben, zeigten nur in vereinzelten Fällen eine Farbstoffspeicherung der toten Zellen. Irgendwelche Übergangsstadien zu den gesunden Zellen des umgebenden Gewebes ließen sich nicht nachweisen. Es ergab sich auch hier wieder, daß die toten Zellen direkt an lebende angrenzen. Leider stand für die Untersuchungen kein Fluoreszenzmikroskop zur Verfügung, das, wie Untersuchungen von Strugger (1949) vermuten lassen, noch manche Aufklärung hätte geben können.

Bei dieser Gelegenheit muß nochmals besonders betont werden, daß bei den histologisch-zytologischen Untersuchungen sich keinerlei Anhaltspunkte für das Vorhandensein pilzlicher oder bakterieller Erreger ergeben haben. Selbst die verschiedenen Spezialfärbungen für Pilzmyzel im Gewebe nach Vaugham (1914), die sich auch zur Färbung von keimenden Pilzsporen auf der Blattoberfläche gut eignen, ferner mit Jodgrün nach Viala et Sauvageau (1892) und Baumwollblau nach Cunningham (1928) blieben völlig erfolglos, da niemals ein Erreger festgestellt werden konnte.

Grundsätzlich war in dem histologisch-zytologischen Bild bei allen Formen der Melanose, abgesehen von der Reibungsmelanose, auf die wir gleich noch einzugehen haben, keinerlei Unterschied festzustellen. Auch die verschiedenen Sorten verhielten sich durchaus gleichartig, so daß also das zytologische Bild dieser Nekrosen bei den Edelsorten und Wildformen identisch ist.

KÜSTER (1951) wies darauf hin, daß sterbendes oder totes Plasma den Pathologen vor eine Fülle von Aufgaben stellt. Es wandelt sich öfter aus schwer zu kontrollierenden Ursachen in gallertige oder feste Massen um. Es scheint so, als ob alle Degenerationserscheinungen, also auch die Nekrosen, einen für die betreffende Zellart charakteristischen Verlauf nehmen, ganz gleich, welcher Art die Ursache hierfür ist. Es gilt dies ganz besonders für die Zellen des Blattgewebes (LINDENBEIN 1937).

Es tritt uns hier das gleiche zytologische Bild entgegen, wie es SORAUER vom herbstlichen Abbau und bei rauchgeschädigten Haferblättern beschreibt, und wie es ebenfalls MEYER (1943) und MÜLLER und BÖRGER (1943) als sehr typische Bilder bei Zellen der Kartoffelknolle beschrieben haben, die durch den Befall mit *Phytophthora infestans* zugrunde gehen. Auch hierbei wandelt sich das Protoplasma, allerdings der turgorlosen und geschrumpften Zellen, in dunkelbraune Plasmareste um, die sich weder durch starke Säuren (H_2SO_4, HCl) noch durch Alkalien (KOH) auflösen lassen. Auch hierbei gelang es nur mit Hilfe von starken Oxydationsmitteln (Eau de Javelle), Aufhellungen zu erzielen.

MEYER (1943) vermutet, nachdem ihm bei den braunen Plasmaresten der Kartoffelzellen der Melaninnachweis nicht gelang, mit DUFRÉNOY (zitiert nach MEYER), daß es sich um eine Gerbstoffbildung handelt. Auch wir können auf Grund der tiefschwarzen Färbung der Plasmareste der abgestorbenen Zellen nach Behandlung mit Eisensulfat wohl annehmen, daß sich hier im Rebenblatt Stoffe von Gerbstoffcharakter gebildet haben. Da auch bei der braunen Zellmasse der Melanoseflecke sich vielfach noch Reste von Stärkekörnern nachweisen ließen, ist mit MEYER (1943) anzunehmen, daß diese Zellen verhältnismäßig schnell abgestorben sind, so daß es nicht mehr zum Abbau der Stärkekörner gekommen ist.

Es wurde schon früher auf ähnliches Auftreten von Blattnekrosen bei *Mirabilis jalapa* hingewiesen, die CORRENS (1912, 1915) auch histologisch untersucht hat. Die äußere Erscheinung dieser nach den Mendel'schen Gesetzen vererbbaren Blattkrankheit ist wie das histologische Bild, sowohl in seiner Entstehung, als im Verlauf der falschen Melanose der Rebe sehr ähnlich. Nur sind bei dem nekrotischen Absterbeprozeß in den Rebenblättern niemals irgendwelche Neubildungen in den benachbarten, scheinbar gesunden Zellen zu beachten gewesen, wahrscheinlich deswegen, weil bei den Reben fast immer nur ausgewachsene Blätter von dieser Erscheinung betroffen werden. Wenn die jungen Spitzen- oder Geizblätter von diesem Prozeß der Nekrotisierung ergriffen werden, haben sie wegen der fortgeschrittenen Jahreszeit bereits ihr weiteres Wachstum eingestellt oder außerordentlich verlangsamt. Äußerlich ähnliche Fleckenbildung ist auch an Tomaten als eine Viruskrankheit (Spotted Wilt) bekannt geworden, die durch SAMUEL, BALD und PITTMAN (1930), BALD und SAMUEL (1931) eingehend studiert wurde. Im Gegensatz zu der falschen Melanose beginnt aber hier der Absterbeprozeß in den Epidermiszellen und greift erst dann auf die anderen Zellelemente über. Bei einer anderen Viruskrankheit der Tomaten stellte SCHUSSNIG (1943) dagegen die ersten pathologischen Veränderungen in den Mesophyllzellen fest, während die Palisadenzellen erst in einem späteren Stadium von der gleichen Veränderung ergriffen wurden.

Dem äußeren und inneren Krankheitsbild der Melanose der Reben außerordentlich ähnlich ist die von STRAIB (1935) näher untersuchte erbliche

Blattnekrose beim Weizen. STRAIB konnte feststellen, daß dem Zelltod der kleinen oder größeren Gewebekomplexe immer Degenerationserscheinungen des Chlorophylls vorausgehen, und daß die Nekrotisierung der einzelnen Zellen und weiterhin des Gewebes n u r die Folgeerscheinung ist. Der einzige Unterschied zu den Blattnekrosen bei der Rebe ist, daß beim Weizenblatt der Absterbeprozeß, abgesehen von den beiden Epidermen, auf die chlorophyllführenden Zellen beschränkt bleibt.

Es soll nochmals betont werden, daß irgendwelche histologische Abgrenzungsreaktionen in der Nähe der nekrotischen Flecke, wie man sie z. B. bei *Prunus laurocerasus* kennt, wo die Nekrosen unter dem Einfluß des Erregers der Schrotschußkrankheit entstehen und wobei der Parasit abgegrenzt wird (GÄUMANN 1951), nicht gefunden wurden.

Merkwürdig ist, daß in dem bisherigen Schrifttum über die falsche Melanose sich niemals ein Hinweis findet, daß die Blätter auch histologisch untersucht worden wären. Wohl liegen aber derartige Untersuchungen für die Brunissure oder die sogenannte Kalifornische Krankheit vor, die ja, wie schon erwähnt, nach den Angaben von RATHAY (1891) offenbar in ganz engem Zusammenhang mit der falschen Melanose steht.

VIALA und SAUVAGEAU (1892) glaubten, wie schon erwähnt, daß die Brunissure durch *Plasmodiophora vitis* verursacht wird und die Kalifornische Krankheit durch einen sehr ähnlichen Schleimpilz *Plasmodiophora californica*. Sonderbarerweise führten sie ihre Untersuchungen an getrockneten, zwei bis drei Jahre im Herbar aufbewahrten Blättern durch und stellten für *P. vitis* fest, daß er sich „zuerst in dem unmittelbar unter der Oberhaut der Blattoberseite befindlichen Zellen des Palisadenparenchyms ansiedelt". Erst später sollen auch die ebenfalls chlorophyllhaltigen Zellen des Schwammparenchyms angegriffen werden. In den Epidermiszellen wurde dieser vermeintliche Schleimpilz nur selten gefunden. Bei der Behandlung mit Eau de Javelle beobachteten sie, daß die Schnitte farblos wurden und daß das Protoplasma der Zellen sich löste bis auf die Plasmodien der *Plasmodiophora vitis*. Es wurden auch die Reifetropfen erkannt, die aber dem Schleimpilz zugeschrieben wurden. Vergleicht man nun die den Abhandlungen beigefügten Abbildungen und auch noch die weiteren Beschreibungen der histologischen Bilder, so ergibt sich eine verblüffende Ähnlichkeit mit den Bildern, die wir bei der falschen Melanose gesehen haben.

Auch die in der Arbeit von MORITZ und BUSSE (1894) wiedergegebenen Abbildungen von Querschnitten durch Rebenblätter, die angeblich von *Plasmodiophora vitis* befallen waren, zeigen das gleiche Bild, wie es uns an Schnitten durch melanotische Blätter immer wieder entgegengetreten ist.

Später ist ja die Ansicht von der parasitären Ursache dieser Krankheit, die schon CAVARA (1894) und BEHRENS (1899) bezweifelten, vor allem durch die Untersuchungen von RAVAZ (1904) und DUCOMET (1904) aufgegeben worden, worauf wir schon hinwiesen.

Die histologischen Untersuchungen an den Windscheuerstellen der Rebenblätter, die Reibungsmelanose genannt worden war, ergaben keine Besonderheiten. Es zeigt sich ein ähnliches Bild, wie es BETHGE (1942) von *Aesculus hippocastanum* schildert. Die Epidermis ist offenbar rein mechanisch abgeschabt bzw. verletzt, so daß die darunterliegenden Palisadenzellen abgestorben sind und der Zellinhalt sich gebräunt hat. Vielfach ist der Absterbeprozeß auch bis in das Schwammparenchym vorgedrungen, aber niemals ist an diesen Stellen das ganze Blatt bis zur unteren Epidermis abgestorben, so daß in der Blattfläche Löcher entstehen, wie dies BETHGE (1942) bei den Blättern der

Roßkastanie beobachtete. Auf der Unterseite sind diese Scheuerstellen nur in der Durchsicht erkennbar. Wandverdickungen durch Anlagerung von Korkschichten bei den Zellen der benachbarten Gewebe, wie sie BETHGE bei der Roßkastanie gefunden hat, sind ebenfalls niemals beobachtet worden.

III. Verhalten der Rebenarten und -sorten

SEELIGER schrieb 1933: „Daß die Bedeutung der Melanose für die Ausreifung des Unterlagenholzes verschieden beurteilt wird, mag — zum Teil wenigstens — damit zusammenhängen, daß diese Krankheit bei der gleichen Sorte unter verschiedenen Standortsbedingungen sehr verschieden stark aufzutreten pflegt. Welche Faktoren hier im einzelnen maßgebend sind, ist noch nicht näher untersucht." Schon die ersten Untersucher der Melanose (VIALA und RAVAZ 1886, 1887) haben darauf hingewiesen, daß *Vitis vulpina* (*riparia*) und *V. rupestris* sowie ihre Bastarde mit Kultursorten, die in der Weinbaupraxis allgemein als „Hybriden" bezeichnet werden, wie z. B. die Sorten Taylor, Clinton usw., ganz besonders stark anfällig gegen die Melanose sind. Die Varietäten von *Vitis vinifera* werden nach VIALA und RAVAZ nur ganz ausnahmsweise davon befallen. Aus den Berichten über einige Versuchsanlagen, in denen die verschiedenen amerikanischen Unterlagsreben des sogenannten engeren preußischen Sortimentes vergleichsweise angebaut waren, geht ebenfalls hervor, daß die einzelnen Rebensorten und sogar Rebenklone in den einzelnen Jahren und an den unterschiedlichen Standorten ein sehr verschiedenes Auftreten dieser Melanose zeigen (ZEISSIG und SEUFFERHELD 1905, SCHMITTHENNER 1911). Auch MUTH (1928) gibt hierfür sehr anschauliche Beispiele. Er weist u. a. auf den großen Einfluß hin, den die Jahreswitterung auf den Melanosebefall haben kann und vermutet darüber hinaus, daß die Beschaffenheit des Bodens ebenfalls bei dem unterschiedlichen Befall einzelner Klone eine Rolle spielen soll. MUTH kommt zu dem Schluß, daß die Empfänglichkeit der einzelnen Sorten gegenüber der Melanose sehr labil ist, da selbst kleine Verschiedenheiten der Lage, der Witterung und des Bodens für das Auftreten oder das Nichtauftreten der Krankheit von Bedeutung sind. Auf Grund dieser Beobachtungen wurden von FUESS (zitiert nach MUTH 1928) aus dem Unterlagenklon *Vitis riparia* Geisenheim 1 zwei Klone selektioniert, Riparia G. 1 Bernkastel-Kues melanosefrei und Riparia G. 1 Engers melanosefrei, die allerdings, wie unsere Beobachtungen ergeben haben, wohl geringeres Melanoseauftreten zeigen, aber keinesfalls völlig melanosefrei sind.

Aus diesen Tatsachen und aus dem Wunsch heraus, gesichertes Beobachtungsmaterial über das Verhalten einer großen Anzahl von Rebensorten gegen die Melanose zu besitzen, wurden bereits von SEELIGER exakte mehrjährige Beobachtungsreihen begonnen. Vor allem kam es ihm darauf an, das Verhalten derjenigen Elternsorten kennenzulernen, die als Ausgangsformen für die Züchtung neuer krankheitswiderstandsfähiger und reblausfester Unterlagen benutzt werden.

Tabelle 1

Durchschnittlicher Melanosebefall eines kleineren Sortimentes der Geisenheimer Sortensammlung von *Vitis*arten und -bastarden in den Jahren 1920 bis 1925 (nach SEELIGER)
0 = kein Auftreten von Flecken, 4 = sehr starke Fleckenbildung, siehe Seite 269

Lfd. Nr.	Blut	Sortenbezeichnung	H. N.	Melanose 1920	Melanose 1921	Melanose 1922	Melanose 1923	Melanose 1924	Melanose 1925
1	V	Riparia Gloire de Montp.	44	1	1	–	–	3	1
2	V	Riparia G. 1	72	4	4	4	4	3	3
3	V	Riparia G. 2	108	–	–	1	–	0	1
4	VR	Riparia × Rupestris C. 3309	567	1	4	1	1	1	1
5	VR	Riparia — Rupestris G. 13	572	3	3	3	3	1	1
6	VR	Riparia — Rupestris G. 15	574	–	–	3	3	1	3
7	VR	Riparia × Rupestris 101—14 M. G.	590	1	1	1	1	1	1
8	BV	Berlandieri × Riparia 34 EM	517	0	0,5	0	0	1	0
9	BV	Berlandieri × Riparia 420 B M. G.	519	1	2,5	0	0	0	0
10	BV	Berlandieri × Riparia 420 A M. G.	518	–	–	0	0	0	0
11	RB	Rupestris × Berlandieri 301 a M. G.	665	1	2	1	1	1	1
12	DV	Cordifolia × Riparia 125—1 M. G.	628	–	–	–	–	1	1
13	DV	Cordifolia × Riparia 17 G	630	–	–	1	1	1	1
14	DV	Cordifolia × Riparia 17 G	630	3	3	1	–	1	3
15	AR	Rupestris × Aestivalis d. Lezignon (Mill.)		–	–	1	1	1	0
16	RD	Rupestris × Cordifolia 107—11 M. G.	687	3	2	0,5	0,5	0,5	2
17	DR	Cordifolia × Rupestris 1 M. G.		–	–	1	1	1	0
18	DV	Cordifolia × Riparia 125—1 M. G.	628	1	2,5	1	1	1	0
19	SV	Solonis × Riparia 1616	535	3	3	0,5	0,5	0	0
			–537						
20	SV	Solonis × Riparia		–	–	0,5	–	1	1
21	V_2DR	Riparia-Rupestris 106—8 M.G.	619	–	–	0	0	0	1
22	V_2DR	Rupestris-Aestivalis × Riparia 227—11 29	617	–	–	0,5	1	0	0
23	EV	Alicante Bouschet × Riparia		–	–	0,5	1	1	0
24	EV	Aramon × Riparia 143 B M. G.	181	0	1,5	4	1	0	2
25	EV	Riparia × Gamay 595 Oberl.	190	–	–	–	3	–	–
26	ER	Cabernet × Rupestris 33 A_1 M. G.	356	0	1	0	0	0	1
27	ER	Aramon × Rupestris 1 Ganzin	338	1	2	1	1	1	0
28	EB	Gutedel × Berlandieri 41 B M. G.	319	1	2	1	1	0	0
			–22						
29	ER	Mourvèdre × Rupestris C. 1202	362	0	3	1	1	1	0
30	EB	Cabernet × Berlandieri 333 EM	318	0	0	0	0	0	0
				1,3	2,1	1,0	0,9	0,9	1,0

Da diese Zahlen bisher noch nicht veröffentlicht wurden, gebe ich SEELIGERS Beobachtungen in einer zusammenfassenden Darstellung wieder (Tabelle 1). Es handelt sich um Beobachtungen über das Auftreten der Melanose aus den Jahren 1920 bis 1925 in der Sortensammlung des Weinbauinstituts in Geisenheim. Auch bei dieser Aufstellung eines verhältnismäßig kleinen Sortimentes zeigte sich bereits das schon erwähnte Schwanken der Befallszahlen sowohl in den einzelnen Jahren als auch innerhalb der gleichen Sorte an verschiedenen Standorten. Die größte bei einer Sorte in den verschiedenen Jahren beobachtete Schwankung liegt zwischen 0 = ohne Fleckenbildung und 4 = sehr starkes Auftreten von Melanose. Diese in der Sortensammlung von Geisenheim begonnenen Beobachtungen wurden nun in den Jahren 1930, sowie 1933 bis 1938 an dem wesentlich umfangreicheren Sortiment in Naumburg und im Vergleich auch an anderen Orten des Weinbaugebietes fortgeführt.

Die Bewertungszahlen der Jahre 1930, 1933 bis 1935, die zum Teil von SEELIGER, zum Teil von BETHMANN stammen, habe ich dem Archiv des Naumburger Institutes entnommen, und soweit sie für den vorliegenden Zweck vergleichbar waren, mit ausgewertet. Die Bewertungen in den Jahren 1936 bis 1938 wurden entweder von mir selbst oder unter meiner Anleitung durchgeführt. Leider mußten mit Beginn des Krieges die Beobachtungen abgebrochen werden und konnten später nur in sehr beschränktem Umfange wieder aufgenommen werden.

In Tabelle 2 sind nicht alle der in den Jahren 1936 bis 1938 beobachteten Sorten der Naumburger Sammlung, die annähernd 1000 Herkünfte umfaßt, wiedergegeben, sondern nur eine kleine Auswahl, die aber ein ausreichendes Bild des Verhaltens gibt. Es handelt sich bei dieser Auswahl um unser sogenanntes „erweitertes Standortsortiment", in dem einmal alle Elternsorten*) enthalten sind, die in Naumburg für die Kombinationszüchtung Verwendung gefunden haben. Darüber hinaus enthält diese Liste die wichtigsten Unterlagensorten und ferner Vertreter der wichtigsten Arten und Artkreuzungen. Dieses „erweiterte Standortsortiment" oder ein etwas enger begrenztes sogenanntes „Standardsortiment" wird je nach der zur Verfügung stehenden Zeit in jedem Jahre auf alle die Eigenschaften hin geprüft, auf die wir bei unseren Kreuzungsfamilien selektionieren. Da auch die anderen züchterisch wichtigen Eigenschaften, wie Holzreife, Krankheitsbefall, Bewurzelungsvermögen, Frosthärte usw. ebenfalls von den Witterungsbedingungen stark abhängig sind, hat sich dieser Vergleich mit dem Verhalten des Standardsortimentes als sehr praktisch erwiesen.

Von jeder beobachteten Sorte, über deren Melanoseanfälligkeit in der Tabelle berichtet wird, standen mindestens zwei Pflanzen zur Verfügung; in einigen Fällen waren auch Klonpflanzungen mit 15 oder 30 Stöcken vorhanden.

Die Beurteilung des Melanosebefalles wurde Mitte September begonnen und, je nachdem der Verlauf der Witterung im Oktober es zuließ, noch ein oder dreimal wiederholt.

*) Es fehlt allerdings *Vitis cinerea* Arnold (Börner). Diese Sorte stand aber damals noch nicht in unserem Freilandsortiment, sondern nur unter Glas. Spätere Beobachtungen haben ergeben, daß *V. cinerea* nur wenig dazu neigt, derartige Nekroseflecke auf den Blättern zu bilden.

Die Bewertung erfolgte nach einer fünfgliedrigen Skala von Wertzahlen, wobei bedeutet:

0 = kein Auftreten von Flecken,
1 = geringes Auftreten von Flecken,
2 = mittelstarkes Auftreten von Flecken,
3 = starkes Auftreten von Flecken,
4 = sehr starkes Auftreten von Flecken, d. h. der größte Teil der Blattspreiten ist stark mit Flecken übersät, oder bei der Flächenmelanose ist die ganze Blattspreite dunkel verfärbt und teilweise nekrotisch abgestorben oder ausgebrochen.

Hierbei wurde aber zwischen den verschiedenen Formen der Melanose, Punktmelanose, flächenhaft auftretende Melanose, Fiederstreifen-Melanose (s. S. 255 bis 261) nicht unterschieden.

Natürlich lassen sich bei einem solchen Bewertungsschema subjektive Einflüsse niemals ausschließen, die noch dadurch verstärkt werden, daß die Bewertung des umfangreichen Materials — es waren zusammen mit den Naumburger Sämlingsquartieren jährlich etwa 6000 Stöcke mehrfach zu bonitieren — mit Unterstützung mehrerer technischer Hilfskräfte erfolgte. Da es bei der Kennzeichnung einer bestimmten Sorte, wie bei allen Bonitierungen, die letzten Endes züchterischen Zwecken dienen sollen, immer nur auf die größten Unterschiede, also auf die Extremtypen ankommt, liegt wohl in dem subjektiven Moment keine Gefahr.

Auf eine Schwierigkeit bei der Bewertung des Melanoseanfälligkeitsgrades mag noch kurz hingewiesen werden. Es ist nicht immer leicht, nekrotische Fleckenbildung, vor allem die Punktmelanose, von den vielen ähnlichen herbstlichen Fleckenbildungen der Rebe, verursacht durch den Befall mit *Plasmopara viticola* oder *Uncinula necator*, dem falschen und echten Mehltau der Rebe, und zum Teil auch von Spritzverbrennungen scharf zu trennen. Husfeld (1932) machte darauf aufmerksam, daß gegen *Plasmopara* hochresistente Reben an der Blattunterseite sehr kleine und schwache Gewebeeintrocknungen zeigen, die leicht mit der Melanose verwechselt werden können. Bei einiger Übung ist aber eine Trennung beider Erscheinungen durchaus möglich, vor allem, weil bei den Flecken der falschen Melanose niemals der Chlorophyllhof an den vergilbenden Blättern erscheint, den Husfeld (1932) als charakteristisch für den *Plasmopara*befall angibt.

In den Jahren 1936 bis 1938 wurde versuchsweise die Bonitierung noch etwas eingehender durchgeführt, indem von jeder zu untersuchenden Sorte das untere, das mittlere und das obere Drittel des Stockes getrennt bewertet wurden. Man erhielt also für jeden Stock drei verschiedene Zahlen. Hierbei ergab sich ein gutes Bild über den Verlauf der Melanose, auf den noch einzugehen sein wird. In der Tabelle 2 sind aber nur Durchschnittszahlen angegeben. Es ist also alles auf einen Wert abgestimmt worden, um eine bessere Vergleichsmöglichkeit zu haben. Es wäre vielleicht interessant gewesen, bei diesen und allen folgenden Betrachtungen, wie man es vielfach auch beim Krankheitsbefall an anderen Pflanzen durchgeführt hat (Schmidt 1939), auch den Maximalbefall zu berücksichtigen. Da hierfür aber die Vergleichszahlen aus den früheren Beobachtungsjahren fehlen, wurde darauf verzichtet.

Bei den in der Tabelle 2 zusammengefaßten Beobachtungen der Melanoseergebnisse bedeuten:

Spalte 1: Die laufende Nummer der untersuchten Rebensorten, die nach ihrer Blutzusammensetzung, siehe Spalte 4, eingeordnet wurden.

Spalte 2: Die sogenannte „Hausnummer", das ist die Bezifferung, die Börner und Schilder (1934) in ihrem Sortimentsverzeichnis für alle Rebenherkünfte der

Naumburger Sortimente eingeführt haben und die als Kurzbezeichnung neben der üblichen Benennung bei uns alle Listen und Vermehrungen führen.

Spalte 3: Die Sortenbezeichnungen, abgekürzt, wie es in der Weinbaupraxis üblich ist.

Spalte 4: Die Spezies oder bei Bastarden die ungefähre Blutzusammensetzung. Es ist dies eine Kurzbezeichnung, die von SCHILDER (1946) eingeführt wurde und die vor allem bei komplizierten Bastarden einen schnellen Überblick gewährt, welche Arten bei der Entstehung dieser Sorte vermutlich beteiligt gewesen sind.

Hierbei bedeuten:

A = *Vitis aestivalis*
B = *Vitis berlandieri*
C = *Vitis cinerea*
D = *Vitis cordifolia*
E = *Vitis vinifera* (Europ. Kulturrebe)
F = *Vitis californica*
G = *Vitis coignetiae*
I = *Vitis candicans*
L = *Vitis labrusca*
M = *Vitis monticola*
R = *Vitis rupestris*
S = *Vitis solonis*
V = *Vitis vulpina* = *V. riparia*

Spalte 5: Die Blütenform nach BÖRNER und SCHILDER (1934), und zwar bedeutet: 1 = Zwitter, 2 = gehemmter Zwitter, 3 = Männchen mit verkümmerter Narbe, 4 = reines Männchen, 5 = reines Weibchen.

Spalte 6: Die Standortsbezeichnung in den Naumburger Sortimentsquartieren.

Spalte 7 bis 13: Die durchschnittliche Melanosebewertung in den einzelnen Beobachtungsjahren.

Spalte 14: Bemerkungen über besondere Formen der Melanose und das Auftreten von Melanose im ersten Rebschuljahr. Hierbei ist zu bemerken, daß die Melanose im allgemeinen nur an mehrjährigen Stöcken auftritt und nur selten auch schon an einjährigen bewurzelten Pflanzen beobachtet wird.

Natürlich spielt, worauf schon SEELIGER (1933) hinwies, das Alter der Stöcke bei der Beurteilung der Melanose eine gewisse Rolle. Bei Sämlingen treten die Blattflecke allgemein erst vom dritten bis vierten Lebensjahr an stärker in Erscheinung. Bei vegetativer Vermehrung der Sorten aus Steckholz, wie es ja in der Weinbaupraxis üblich ist, tritt diese Erscheinung ebenfalls erst im zweiten oder dritten Jahre, nachdem die Stöcke sich gekräftigt haben und auch gut ausgereiftes Holz entwickeln, in Erscheinung. Es gibt aber auch Sorten, bei denen man schon im ersten Stecklingsjahre mehr oder weniger starke Melanose beobachten kann. Es handelt sich fast ausschließlich um die sogenannte Punktmelanose. Diese Sorten haben wir in der Übersicht ebenfalls besonders gekennzeichnet.

Das Ergebnis der Tabelle 2 zeigt nun, wie dies aus den bereits früher mitgeteilten Beobachtungen anderer Beobachter auch schon hervorging, daß die einzelnen Stöcke ein und derselben Sorte recht unterschiedliche Befallsgrade aufweisen können. Irgendwelche Beziehungen zwischen der Blutzusammensetzung der einzelnen Sorten und der Melanoseanfälligkeit, wie sie eigentlich auf Grund der Beobachtungen von MARSAIS (1906) zu erwarten gewesen wären, lassen sich nicht mit Sicherheit ableiten. Man findet stark anfällige Typen und Formen mit geringerem Auftreten der Melanose bei allen Artkombinationen wahllos vertreten. Die von MUTH (1928) vertretene Ansicht, daß die Formen von *V. berlandieri* am wenigsten zur Melanose neigen, ließ sich an den reinen Arten zwar nicht feststellen, weil diese wegen ihrer geringen Frosthärte und der Spätreife bei uns fast alle unter Glas gehalten werden. Die Kombinationen aber von *V. berlandieri* mit den anderen Arten

V. vulpina, V. rupestris oder auch mit *V. vinifera* geben keine Anhaltspunkte für ein abweichendes Verhalten.

Die Schwankungen, die die einzelnen Stöcke und Sorten in den verschiedenen Jahren zeigen, sind auch bei unseren Beobachtungen, wie zu erwarten war, zum Teil recht erheblich. Es lassen sich, genau wie bei den früheren Beobachtungen SEELIGERS, Sorten erkennen, die in allen Jahren ein verhältnismäßig einheitliches Befallsbild aufweisen, vor allem natürlich bei geringem Auftreten der Melanose, und solche, bei denen sehr starke Unterschiede festzustellen sind.

Derartige Schwankungen in bezug auf den Befallsgrad findet man ja allgemein bei Beobachtungen über das Resistenzverhalten der verschiedensten Kulturpflanzen und bei den verschiedensten Krankheitserregern. Es ist also eine sehr allgemeine Erscheinung, die mit der standorts- und witterungsbedingten Modifizierbarkeit derartiger Erscheinungen zusammenhängt. Es sei hier nur erinnert an die Befallsschwankungen, die HASSEBRAUK (1939) u. a. (dort weitere Literatur) beim Befall des Weizens gegen den Weizenbraunrost und RUDLOFF und SCHMIDT (1935) und SCHMIDT (1939) beim Schorfbefall der Apfelsorten feststellten. Auch alle diese Befallsschwankungen waren stark von Umweltfaktoren abhängig, und nur selten hat man diesen Faktor Umwelt genau analysieren können.

Wenn es bei einjährigen oder zweijährigen Pflanzen, wie beim Getreide, noch verhältnismäßig einfach erscheint, eine Klarstellung darüber anzustreben, welche Änderungen in den Umweltbedingungen, wie Belichtung, Temperatur, Luftfeuchtigkeit oder Bodenernährung und Alter der Versuchspflanzen dieses unterschiedliche Verhalten maßgeblich beeinflussen, so stoßen derartige Versuche bei den mehrjährigen Gewächsen auf erhebliche Schwierigkeiten. Es soll aber versucht werden, auf Grund der vieljährigen Beobachtungen und einiger Versuche hier einige Klarheit zu bringen.

Ehe wir hierauf näher eingehen, ist, was in der Sortenübersicht aus gleich noch näher zu erläuternden Gründen nicht dargestellt wurde, noch darauf hinzuweisen, daß die Melanose, obwohl sie in erster Linie eine Erscheinung an den amerikanischen Arten und deren Bastarden ist, doch auch bei einigen europäischen Kultursorten in offenbar besonders günstig gelagerten Jahren beobachtet werden konnte.

Da bei den Edelsorten, die ja in unseren Klimaten ohne mehrfache Kupferspritzungen nicht am Leben erhalten werden können, eine Verwechslungsmöglichkeit der Melanose mit anderen Erscheinungen zu leicht gegeben ist, und die Feststellung, ob es sich wirklich nur um eine Nekrose aus inneren Ursachen heraus handelt, zu umständlich ist (SEELIGER 1925), wurde eine zahlenmäßige Bewertung nicht durchgeführt. Es sollen lediglich die Sorten unseres Sortimentes genannt werden, bei denen mehrfach ein eindeutiges Auftreten von Punktmelanose, wenn auch nur mit höchstens als mittelstark zu bezeichnendem Befall, festgestellt werden konnte: Madeleine angevine, Madeleine blanche, Gelber Muskateller, Gelbe und Grüne Seidentraube, Grüner Silvaner, Triumpfrebe und Roter Trollinger. Zu betonen ist noch, worauf schon früher hingewiesen wurde, daß das mikroskopisch-histologische Bild der Punktmelanose bei den Kultursorten und bei amerikanischen Wildarten das gleiche war.

Tabelle 2 Melanosebewertung des sogenannten erweiterten sammlung in den Jahren 1930 sowie 1933

Lfd. Nr.	H. N.	Sortenbezeichnung	Blut	Geschl.	Standort	1930 ∅	1933 ∅
1	2	3	4	5	6	7	8
1	8	Coignetiae	G	5	L 11–25	–	0
2	13	Labrusca Gen.	L	1	N 9–1	–	–
3	14	Labrusca Berl.	L	1	N 7–20	–	–
					N 11–24	–	0
4	23	Adobe Giant	L	5	N 10–21	–	–
					Cg 13–20	–	–
5	27	Californica	F	3,4	L 11–26	–	0
6	32	Riparia Ge. 1	V	5	N 10–4	–	–
					Cg 15–10	–	–
7	45	Rip. grand glabre	V	5	L 11–13	1	1,8
					Cg 15–23	–	–
8	73	Riparia G. 64	V	5	L 10–19	2,5	0
					Cg 14–21	–	–
9	78	Riparia G. 72	V	5	L 10–24	3	0,6
					Cg 14–26	–	–
10	79	Riparia G. 73	V	5	L 10–25	2	0
					N 9–19	–	–
					Cg 14–27	–	–
11	81	Riparia G. 75	V	5	L 10–27	3	0,4
					Cg 14–29	–	–
12	83	Riparia G. 79	V	5	L 11–2	1	0,4
					Cg 15–1	–	–
					Geisenheim	–	–
13	85	Riparia G. 86	V	5	L 11–4	3	0,8
					Cg 15–3	–	–
					Geisenheim	–	–
14	89	Riparia G. 181	V	5	L 11–9	3	2
					Cg 15–7	–	–
15	91	Riparia G. 183	V	5	L 11–11	2,5	2
					Cg 15–9	–	–
16	92	Riparia Meiss. 7	V	5	N 6–8	–	–
					Cg 16–3	–	–
17	108	Riparia G. 2	V	5	L 10–18	2,5	0,8
					Cg 14–20	–	–
18	118	Rip. pub. Tief.	V	5	L 5–14	1	–
					Cg 16–17	–	–
					Geisenheim	–	–
19	122	Riparia Meiss. 4	V	5	N 6–5	–	–
					Cg 16–1	–	–
20	44	Rip. Gloire. de Montp.	V	3–4	L 7–1	1,5	0,2
					Geisenheim	–	–
					Cg 15–13	–	–
21	48	Riparia Michel	V	3–4	N 6–22	–	–
					Cg 16–6	–	–
22	54	Riparia Portalis	V	3–4	N 8–8	–	–
23	58	Rip. Port. rouge	V	3–4	N 5–5	–	–
					Cg 15–22	–	–
24	59	Rip. pub. gris	V	3–4	N 5–12	–	–
					Cg 16–19	–	–
25	63	Rip. sarm. viol.	V	3–4	N 4–5	–	–
					Cg 16–23	–	–
26	66	Riparia splendens	V	2–4	L 11–14	1,5	–
					Cg 16–29	–	–

Standardsortimentes der Naumburger Sorten- bis 1938 Erklärungen siehe Text Seite 268 ff. *Tabelle 2*

1934 Ø	1935 Ø	1936 Ø	1937 Ø	1938 Ø	Bemerkungen
9	10	11	12	13	14
1	4	0,3	–	–	
–	3	0,3	0	–	
–	3	–	0	–	
1,5	3	2,5	3	–	Fleckenmelanose nur Oberseite.
–	1	–	0	–	
–	–	–	0	0	
1,5	1	2,0	1	–	diff. Punktmelanose.
–	–	–	4	–	Punktmelanose.
–	–	–	3,5	0,5	
2	1,5	2,5	1	–	
–	–	–	1,5	0,2	Fleckenmelanose, nur im Bereich
1,5	1,5	1	1	–	des ausgereiften Holzes.
–	–	–	1	0	
1,5	1	1	1	0	
–	–	–	1	0,2	
0,5	1	1,5	–	–	
–	–	–	0,5	–	nur interkostal absterbende Zell-
–	–	–	0	0	partien, keine echte Melanose.
1	1	0	–	–	interkostale Fleckenbildung bei
–	–	–	0,5	0,2	fertigem Trennungsgewebe.
1,5	1	0	0	–	typisches interkostales Absterben,
–	–	–	0	0	keine Melanose, auch nicht
–	–	0,4	1,5	–	an Geizblättern.
1,5	2	1	1	–	
–	–	–	0,5	0,2	
–	–	0,6	2,5	–	
1,5	2	2,5	1	–	typische Punktmelanose, aber
–	–	–	0,5	0,5	auch interkostal absterbende
1,5	1,5	1,5	–	–	Partien.
–	–	–	0,5	0,2	
–	2	–	0	–	
–	–	–	0	0	
2	2,5	2	0	–	diffuse Punktmelanose, übergehend
–	–	–	0,5	0	in Fleckenmelanose.
–	–	1	1	–	1936: unregelmäßig verteilte
–	–	–	1	0,5	größere Punkte, sieht aus wie
–	0,2	–	–		Infektion (*Plasmopara?*)
–	2,5	–	1	–	
–	–	–	1	0,5	
1	2	1	2,5	–	starke Punktmelanose; folgt
–	2,5	1	–	–	den Nerven, gleichzeitig Inter-
–	–	–	2	0,2	kostalvergilbung, fließt zur
–	1,5	–	–	–	Fleckenmelanose zusammen.
–	–	–	1	0,2	
–	1,5	–	0,5	–	nur geringe Fleckenbildung,
–	3	–	1	–	typisch interkostal. = Fieder-
–	–	–	1	0,2	streifenmelanose.
–	2	–	1	–	
–	–	–	–	0	
–	2	–	1,5	–	
–	–	–	0,5	0,2	
1,5	–	2,5	1,5	–	1936: merkwürdig eckige Flecke
–	–	–	–	0,5	mit hellem Hof, sehr starke
					Punktmelanose, Schule.

Tabelle 2 (Fortsetzung)

Lfd. Nr.	H. N.	Sorten-bezeichnung	Blut	Ge-schl.	Standort	1930 ∅	1933 ∅
1	2	3	4	5	6	7	8
27	70	Rip. Geisenheim	V	3–4	L 7–4	–	3,2
					Cg 14–15	–	–
28	71	Riparia G. 1	V	3–4	L 10–15	3	2
					Cg 14–18	–	–
					Geisenheim	–	–
29	72	Riparia G. 1 A	V	3–4	L 10–16	–	2
					Cg 14–19	–	–
					Geisenheim	–	–
30	74	Riparia G. 65	V	3–4	N 9–15	2,5	0,2
					L 10–20		
					Cg 14–22	–	–
31	76	Riparia G. 69	V	2–4	L 10–22	2,5	1
					Cg 14–24	–	–
32	77	Riparia G. 71	V	2–4	L 10–23	3	1,5
					Cg 14–25	–	–
					Geisenheim	–	–
33	80	Riparia G. 74	V	3–4	L 10–26	2	–
					Cg 14–28	–	–
					Geisenheim	–	–
34	84	Riparia G. 80	V	2–4	L 11–3	1,5	1
					Cg 15–2	–	–
35	86	Riparia G. 176	V	3–4	L 11–6	2	–
					Cg 15–4	–	–
36	87	Riparia G. 179	V	2–4	L 11–7	2,5	0,2
37	88	Riparia G. 180	V	2–4	L 11–8	3	0,4
					Cg 15–6	–	–
38	90	Riparia G. 182	V	2–4	L 11–10	2	1,2
					Cg 15–8	–	–
39	94	falsche Amurensis	V	3–4	L 11–27	–	1,6
					Cg 17–9	–	–
40	100	falsche Berl. Ress. 1 × Riparia Gloire	V	3–4	L 1–17	2,5	–
					Cg 5–28	–	–
41	104	Rip. viol. Lautr.	V	4	N 4–3	–	–
					Cg 17–3	–	–
42	117	Rip. pub. Klo.	V	3–4	L 5–10	2,5	1,8
					Cg 16–16	–	–
43	133	Rupestris G. 9	R	3–4	L 7–7	0,5	0,2
					Cg 2–18	–	–
44	134	Rupestris G. 187	R	5	L 7–12	2,5	0,4
					Cg 2–19	–	–
45	137	Rup. metall. Off.	R	3–4	L 7–9	2,5	1,4
					Cg 2–30	–	–
46	139	Rup. metall. G. 9	R	3–4	L 11–16	–	0,3
					Cg 3–3	–	–
47	144	Rupestris Dern	R	5	L 3–13	–	0
					Cg 2–32	–	–
48	146	Rupestris du Lot.	R	4	L 11–17	1,5	1,2
					Cg 2–25	–	–
49	147	Rup. Martin (C)	R	4	Kästenberg	–	–
					Cg 2–29	–	–
50	150	Rup. St. Géorg érig.	R	5	Cg 2–22	–	–
					Geisenheim	–	–

Tabelle 2 (Fortsetzung)

1934 ∅	1935 ∅	1936 ∅	1937 ∅	1938 ∅	Bemerkungen
9	10	11	12	13	14
2	4	2,5	–	–	Punktmelanose, die in Flächen-
–	–	–	2,5	0,4	melanose übergeht.
4	4	3,0	3	–	typische Punktmelanose, die z.T.
–	–	1,2	3,5	2	in Fleckenmelanose übergeht,
–	2	1,2	–	–	typisch interkostal, auch an den Geizen, starke Punktmelanose, Schule.
3,5	3	3	2	–	Punktmelanose, meist aber den
–	–	1,2	2,5	0,5	größeren Flecken gleich, nicht
–	2	1,2	–	–	in der Nähe der Hauptnerven.
1	1,5	3,5	0	–	1938: interkostal absterbende Zellpartien, die sehr spät in typische
–	–	–	0,5	0,2	Fleckenmelanose übergehen.
–	–	3,5	–	–	interkostale P.-Melanose, die in
–	–	–	1,5	0	typische Flächenmelanose übergeht, Schule, stark P.-Mel.
–	–	0,5	0,5	–	
–	–	–	1,5	0,2	
–	–	–	0,6	2	
1	–	0,5	1	–	typische Fiederstreifenmelanose.
–	–	–	1,5	0	
–	–	0,4	1,7	–	
1	1	0	0,5	–	
–	–	–	0	0	
1,5	–	2,5	1	–	
–	–	–	0,5	0,3	
1,5	1,5	2	1	–	unregelmäßig verteilte Punkte; Fleckenmelanose, teilweise auch
2	2	0,8	1	–	die Nerven schwarz, auch bei
–	–	–	1,5	0	den Geizblättern.
2	3	4	0,5	–	interkostal absterbende Zellpartien,
–	–	–	0,5	0,2	aber nur bei gut ausgereiftem Holz.
1,5	3	3	3	–	großfleckige P.-Melanose, über-
–	–	–	0,5	1,0	gehend in größere Flecke, Un-
0,5	–	0	–	–	terseite meist braunfleckig.
–	–	–	0,5	0,0	Schule, wenig Punktmelanose.
–	2	–	0	–	
–	–	–	1,5	0,6	
1,5	1	1	2	–	
–	–	–	1,5	0	
1	1	0	0	–	1938: keine Melanose, aber
–	–	–	0,5	0,2	schwarz gefärbte Nervenstücke
1	1	1,5	2	–	Infektion (?).
–	–	–	1,5	0,2	
1,5	2	0	2	–	Schule, wenig Punktmelanose.
–	–	–	1,5	0,5	
1,5	1	2,5	0	–	
–	–	–	0,5	0,5	
1	1	1	–	–	
–	–	–	–	0	
1,5	1	2	1,5	–	typ. Rup.-Melanose, unregelm. verteilte Flecke, Fleckenbildg. geht üb. Holz-
–	–	–	1,5	1	reife hinaus, spät. Unters. st. gebräunt
–	1	0,4	1	–	typische Rupestris-Melanose.
–	–	–	1	0,5	
–	–	0	0,7	1	
–	–	–	1,5	–	

Tabelle 2 (Fortsetzung)

Lfd. Nr.	H. N.	Sortenbezeichnung	Blut	Geschl.	Standort	1930 ∅	1933 ∅
1	2	3	4	5	6	7	8
51	175	Berlandieri Wash. 1	B	5	N 10–25	–	–
52	136	Rupestris H. G. 9	VR	2–4	L 8–1	0,5	0
					Cg 2–24	–	–
					Cg 15–12	–	–
53	566	Rip.× Rup. C. 3306	VR	3–4	L 7–18	2	1,6
					Cg 11–1	–	–
					Geisenheim	–	–
54	567	Rip.× Rup. C. 3309	VR	3–4	L 7–19	2,5	1,2
					Cg 11–2	–	–
					Geisenheim	–	–
55	568	Rip.× Rup. C. 3310	VR	3–4	L 13–23	2	–
					Cg 11–5	–	–
56	570	Rip.—Rup. G. 11	VR	5	L 6–1	3	0,4
					Cg 11–7	–	–
57	572	Rip.—Rup. G. 13	VR	5	L 7–15	3	3
					Cg 11–10	–	–
58	575	Rip.—Rup. G. 66	VR	5	L 6–5	2,5	1,4
					Cg 11–13	–	–
59	577	Rip.—Rup. G. 88	VR	5	L 6–7	3	–
					Cg 11–16	–	–
60	578	Rip.—Rup. G. 107	VR	2–4	L 11–18	2,5	–
					Cg 11–18	–	–
61	582	Rip.—Rup. G. 175	VR	5	L 6–11	3	–
					Cg 11–21	–	–
62	583	Rip.× Rup. G. 186	VR	5	L 7–10	2,5	1,6
					Cg 11–22	–	–
63	584	Rip.—Rup. G. 192	VR	2–4	L 7–26	2,8	0,8
					Cg 11–23	–	–
64	585	Rip.—Rup. G. 193	VR	5	L 7–27	3	2
					Cg 2–20	–	–
65	590	Rip.× Rup. M. G. 101–14	VR	5	L 5–1	–	0
					Cg 12–5	–	–
					Hochheim	–	–
					Geisenheim	–	–
66	591	Rip.× Rup. M. G. 101–14 Na E 1	VR	3–4	Cg 12–6	–	–
					Veitshöchh.	–	–
					Kästenberg	–	–
					Oppenheim	–	–
67	594	Rip.× Rup. M. G. 108	VR	3–4	L 6–18	–	–
					Cg 10–25	–	–
68	596	Rip.× Rup. M. G. 108–103	VR	5	L 6–20	1,5	0,2
					Cg 12–12	–	–
69	597	Rip.× Rup. San. Mich.	VR	5	L 6–21	3,5	–
					Cg 11–30	–	–
70	599	Schwarzmann-Rebe	VR	4	L 3–7	0	0,2
					Cg 12–27	–	–
71	603	Of. 5 A	VR	4	L 5–2	1	0
					Cg 12–13	–	–
72	607	Of. 5 O	VR	5	L 5–15	3	1,2
					Cg 12–19	–	–
73	610	Of. 5 W	VR	2–4	L 5–23	3	0,4
					Cg 12–24	–	–
74	468	Berl.—Rip. Tel. A	VB	5	L 3–26	3,5	2,4
					Cg 5–30	–	–

Tabelle 2 (Fortsetzung)

1934 ∅	1935 ∅	1936 ∅	1937 ∅	1938 ∅	Bemerkungen
9	10	11	12	13	14
–	1	1	0	–	
1	1	0	0	–	
–	–	–	1	1	
–	–	–	0,5	0,5	Punkt- und Fleckenmelanose,
1,5	–	2	2	–	deutlich interkostal,
–	–	–	2,5	1,5	Unterseite braunfleckig.
–	–	2	2,3	–	
1,5	2,5	2,5	2,5	–	gröbere P.-Melanose: interkostal;
–	–	–	2,5	1,3	fast Rupestristyp. Schule,
–	–	1,4	1,5	–	wenig Punktmelanose.
1	–	–	1	–	
–	–	2,5	3	1	
2,5	2	0,5	3	–	
–	–	–	2,0	0,5	
2	3	2	2	–	
–	–	–	2,5	0,2	
2,5	2,5	1	1	–	
–	–	–	1,5	0	
2	–	1,5	2	–	Schule, wenig Punkt-
–	–	–	3,5	0,5	melanose.
1	–	1,5	0,5	–	Flecken- und Flächenmelanose.
–	–	–	0,5	0,2	
1	–	1,5	1	–	
–	–	–	2	0,5	Schule, wenig Punkt-
2	–	2,5	2	–	melanose.
–	–	–	1	0,2	
1,5	2	2	1	–	
–	–	–	2	0	
1	2	0	0	0	
–	–	–	1,5	0	
1	1	2	0	–	
–	–	–	0	0	
–	–	–	0	–	
–	0	0	–	–	
–	0	0	0	–	
–	0	0	0	–	
–	0,2	0,2	0,2	–	
–	0	0	0	–	
2	–	2,7	3	–	ausgesprochen größere Punkt-
–	–	–	2	2,0	melanose, Punktnekrose meist in
1	1	0	1	2	der Nähe der Nerven (Flecken-
–	–	–	1	0,4	melanose nach Muth).
2,5	–	2	3	–	
–	–	–	2,5	0,5	Schule, wenig Punkt-
1,5	1	0	0	–	melanose.
–	–	–	1,5	0,4	
1,5	1	0	1	–	
–	–	–	0,5	0,4	
1,5	1	1,5	–	–	
–	–	–	1,5	0,2	
1	2	1	1	–	
–	–	–	1,5	0	
1	2	2,5	–	–	
–	–	–	1	0,4	

Tabelle 2 (Fortsetzung)

Lfd. Nr.	H. N.	Sortenbezeichnung	Blut	Geschl.	Standort	1930 ∅	1933 ∅
1	2	3	4	5	6	7	8
75	470	Berl.× Rip. Tel. C	VB	3–4	L 4–1	–	0,6
					Cg 6–2	–	–
					Geisenheim	–	–
76	471	Berl.× Rip. Tel. D	VB	3–4	L 4–2	–	–
					Cg 6–3	–	–
					Geisenheim	–	–
77	472	Berl.× Rip. Tel. E	VB	5	L 4–5	2,5	0,5
					Cg 6–4	–	–
					Geisenheim	–	–
78	473	Berl.× Rip. Tel. F	VB	4	L 4–7	3	1,8
					Cg 6–5	–	–
					Geisenheim	–	–
79	474	Berl.× Rip. Tel. G	VB	5	L 4–26	3	0,6
					Cg 6–6	–	–
					Geisenheim	–	–
80	475	Berl.× Rip. Tel. H	VB	4	L 4–27	3	–
					Cg 6–7	–	–
					Geisenheim	–	–
81	477	Berl.× Rip. Tel.A.4	VB	4	L 9–20	3	2
					Cg 6–9	–	–
					Geisenheim	–	–
82	478	Berl.× Rip. Tel. 5	VB	5	Ou 2	–	–
					Cg 6–11	–	–
83	479	Berl.× Rip. Tel.5A	VB	5	L 12–15	3	1,2
					Cg 6–12	–	–
					Geisenheim	–	–
84	480	Berl.× Rip. Tel. C = 6 A	VB	5	L 9–21	2,5	–
					Cg 6–14	–	–
					Geisenheim	–	–
85	482	Berl.× Rip. Tel.8A	VB	4	L 2–6	3	–
					Cg 6–19	–	–
					Geisenheim	–	–
86	481	Berl.× Rip. Tel. 8	VB	5	L 4–13	3	–
					Kästenberg	–	–
87	483	Berl.× Rip. Tel.8B	VB	3–4	L 1–22	2	0,8
					Cg 6–20	–	–
					Geisenheim	–	–
88	484	Berl.× Rip. Tel.8B längl. Typ	VB	4	Ou 5	–	–
					Cg 6–21	–	–
					Oppenheim	–	–
89	485	Berl.× Rip. Tel.8B rundlicher Typ	VB	3–4	Cg 6–22	–	–
					Oppenheim	–	–
90	486	Berl.× Rip. Tel.9A	VB	3–4	L 9–22	2,5	–
					Cg 6–23	–	–
					Geisenheim	–	–
91	489	Berl.× Rip. Kob. 2 BB	VB	5	L 4–20	3	2
					Cg 6–24	–	–
					Geisenheim	–	–
92	490	Berl.× Rip. Kob. 5 BB	VB	5	L 9–27	2,5	0,5
					Cg 6–25	–	–
					Geisenheim	–	–
93	498	Berl.× Rip. Kob. 27 BB	VB	5	L 12–17	2,5	1
					Cg 7–9	–	–
94	501	Berl.× Rip. Kob. 75 BB	VB	3–4	L 4–22	2,5	–
					Cg 7–11	–	–
					Geisenheim		

Tabelle 2 (Fortsetzung)

1934 ∅	1935 ∅	1936 ∅	1937 ∅	1938 ∅	Bemerkungen
9	10	11	12	13	14
1,5	1	2	3	–	typische Flecken- und Flächenmelanose
–	–	–	2,5	0,4	
–	2,5	0,8	–	–	
1,5	–	2,5	3	–	
–	–	–	3,5	1,5	
–	2	1,2	–	–	
1,5	1,0	1,5	1	–	
–	–	–	1,5	0,2	
–	2	1	–	–	
1,5	3	1	3	–	
–	–	–	3,5	1	
–	2	0,8	–	–	
1	–	0	1,5	–	
–	–	–	0,5	0,2	
–	0,5	0	–	–	
–	–	2	2,5	–	
–	–	–	3	1,5	
–	2	0,5	–	–	
1,5	3	2,5	1,5	–	
–	–	–	1,5	0,5	
–	1	0,5	–	–	
–	2	–	1	–	
–	–	–	2,5	0,5	
1	2	1,5	1	–	
–	–	–	2,5	0,5	
–	0,5	0,5	–	–	
1,5	–	2,5	1,5	–	
–	–	–	3,5	0,5	
–	2	1,5	–	–	
2	–	3,5	4	–	
–	–	3,5	4	3,5	
–	2	3	–	–	
1	–	0,5	1,0	0,2	
–	0	0	–	–	
2	2	0,5	–	–	Typische Flächenmelanose = brunissure?
–	–	–	1,5	0,2	
–	1,5	0,5	–	–	Unterseite nicht verfärbt.
–	–	–	3,5	–	
–	–	–	2,5	1,5	
–	0	0	1,5	–	
–	–	–	0	0	
–	0	0	0,1	–	
2	–	2	1,0	–	
–	–	–	1,5	0	
–	2	0,3	–	–	
1,5	1,5	2,5	2	–	typische Punktmelanose, die in Flächenmelanose übergeht. Die Blätter mit der stärksten Verfärbung haben oberseits Trennungsgewebe angelegt.
–	–	–	3,5	1,5	
–	3	1,2	–	–	
1	2	2,5	1	–	
–	–	–	1	0	
–	–	1	0,8	–	
2,5	4	3	4	–	
–	–	–	2,5	1	
1	–	3	–	–	
–	–	–	2,5	1	

Tabelle 2 (Fortsetzung)

Lfd. Nr.	H. N.	Sorten-bezeichnung	Blut	Ge-schl.	Standort	1930 ∅	1933 ∅
1	2	3	4	5	6	7	8
95	502	Berl.× Rip. Kob. 124 B	VB	5	L 9–25 Cg 7–12	3 –	1,2 –
96	503	Berl.× Rip. Kob. 125 AA	VB	5	L 9–26 Cg 7–14 Geisenheim	3 – –	2,8 – –
97	504	Berl.× Rip. Kob. 127 BB	VB	5	L 9–23 Cg 7–16	2,5 –	2,4 –
98	505	Berl.× Rip. Kob. 188 AA	VB	4	L 4–15 Cg 7–18	3 –	2,8 –
99	506	Berl.× Rip. Kob. 189 A	VB	5	L 4–16 Cg 7–20	1 –	0,2 –
100	508	Berl.× Rip. Kob. 238 BB	VB	5	L 4–23 Cg 7–21	3 –	1,8 –
101	509	Berl.× Rip. Kob. 374 CC	VB	4	L 4–24	–	2
102	510	Berl.× Rip. Kob. 452 D	VB	5	L 4–25 Cg 7–22 Geisenheim	3,5 – –	1,8 – –
103	512	Berl.× Rip. Kob. 490	VB	4	L 4–18 Cg 7–24	2,5 –	0,6 –
104	517	Berl.× Rip. Foëx E. M. 34	VB	4	Kästenberg L 4–8 Cg 5–19	– 1,5 –	– 1 –
105	518	Berl.× Rip. Gloire M. G. 420 A	VB	3–4	L 1–15 Cg 5–23 Kästenberg	– – –	– – –
106	519	Berl.× Rip. Gloire M. G. 420 B	VB	3–4	L 13–26 Cg 5–25 Veitshöchh.	– – –	– – –
107	520	Berl. Lass. Sorres × Rip. Gloire C 157–11	VB	3–4	L 1–18 Cg 5–18	2,5 –	0,5 –
108	536	Sol.× Rip. C. 1616 Na. A	VS	2–4	L 2–10 Cg 13–29 Geisenheim	1 – –	0,2 – –
109	537	Sol.× Rip. C. 1616 Na. B	VS	5	L 13–2 Cg 13–5 Kästenberg	– – –	– – –
110	538	Sol.× Rip. C. 1616 Na. C	VS	2–4	L 2–10 Cg 12–30 Geisenheim	1 – –	0,2 – –
111	541	Sol.× Rip. G. 178	VS	5	L 8–17 Cg 13–14	2,5 –	1,8 –
112	544	Sol.× Rip. Longii	VS	5	Cg 13–19 Geisenheim	– –	– –
113	545	Sol.× Rip. Sol. Trier	VS	3–4	L 8–9 Cg 13–27	3 –	2 –
114	546	Sol.× Rip. falsch	VS	5	L 4–6 Cg 5–26	3 –	– –
115	628	Cord.× Rip. M. G. 125–1	VD	2–4	L 17–24 Cg 10–24 Kästenberg	2,5 – –	– – –
116	629	Cord.× Rip. G. 16	VD	3–4	L 1–25 Cg 10–9	3 –	0,4 –
117	630	Cord.× Rip. G. 17	VD	3–4	L 10–8 Cg 10–10	2 –	3 –

Tabelle 2 (Fortsetzung)

1934 ∅	1935 ∅	1936 ∅	1937 ∅	1938 ∅	Bemerkungen
9	10	11	12	13	14
1	2	2	2,5	–	
–	–	–	2	1,5	
2	2,5	2	2	–	beginnende Punktmelanose, aber
–	–	–	2,5	–	ungleichmäßig, später inter-
–	–	0,6	1,3	–	kostal absterbende Bezirke.
1,5	1,5	2,5	1	–	
–	–	–	1	0,5	
1,5	2	2,5	2	–	
–	–	–	1,5	1,5	
1	1	0,5	1	–	
–	–	–	0,5	0,5	
1	2,5	2,5	–	–	
–	–	–	3,5	1,5	
1,5	2	2	2	–	interkostale Flecken- u. Flächen-
					melanose.
1,5	3	3,5	–	–	Punkt-, Flecken-, und Flächen-
–	–	–	3,0	2	melanose.
–	–	1	2	–	
1,5	1	1,5	2	–	
–	–	–	2	0,5	
–	0,5	0,1	–	–	
1	0	0,5	1	–	
–	–	–	0,5	0,4	
0,5	–	1	–	–	Punkt- u. Fleckenmelanose, geht
–	–	–	1,5	0	über in interkostale Flächen-
–	0	0	0	–	melanose.
1	–	2,5	–	–	
–	–	–	3,5	0	
–	0	0	0,5	–	
0,5	0,5	0	–	–	unregelmäßig verteilte feine
–	–	–	1,5	0	Punktmelanose, aber wenig.
1	1	0	2	–	
–	–	–	2	0,5	
–	–	0,5	2,3	–	
3	–	3	3	–	
–	–	–	2	1,5	
–	1,5	1,0	2,3	–	
0,5	2	0	2	0,5	
–	–	–	1,5	–	
–	–	0,4	1	–	
1,5	3	2	–	–	
–	–	–	1	0	
–	–	–	2,5	0,4	
–	–	1	3	–	
1	1,5	0,5	2	–	
–	–	–	2	1	
1,5	–	2	3	–	
–	–	–	3,5	1,5	
1,5	–	2,5	2,5	–	
–	–	–	2	0,5	
–	0,3	1	1	–	
1	1	0	–	–	
–	–	–	0,5	0	
2,5	3	3	3	–	
–	–		3,5	0,5	

Tabelle 2 (Fortsetzung)

Lfd. Nr.	H. N.	Sortenbezeichnung	Blut	Geschl.	Standort	1930 ∅	1933 ∅
1	2	3	4	5	6	7	8
118	631	Cord.× Rip. G. 19	VD	5	L 10–2	–	0
					Cg 10–13	–	–
119	632	Cord.× Rip. G. 20	VD	3–4	L 1–3	0,5	0,6
					Cg 10–14	–	–
120	633	Cord.× Rip. G. 90	VD	3–4	L 1–27	3	0,5
					Cg 10–17	–	–
121	636	Rip.× Labr. (Kiliansrebe)	VL	1	Geisenheim	–	–
122	643	Labr.× Rip. „Aestivalis“	VL	5	L 10–1	–	–
					Geisenheim	–	–
123	645	Labr.× Rip.Aestiv. G 170	VL	3–4	L 10–4	2,5	1,8
					Cg 17–7	–	–
					Geisenheim	–	–
124	646	Amurensis G. 167	VL	5	L 10–6	–	–
125	647	falsche Amurensis	VL	5	L 10–5	3	0,5
126	665	Rup.× Berl. M. G. 301 A	RB	5	L 8–4	1	0,4
					Cg 1–20	–	–
127	667	Rup× Berl. M. G. 301 C	RB	5	L 8–6	2	0,4
					Cg 1–22	–	–
128	668	Rup.× Berl. Tel. 10 A	RB	4	L 12–20	–	2
					Cg 1–22	–	–
129	672	Richter 57	RB	5	L 12–9	1	–
					Cg 1–25	–	–
130	673	Richter 99	RB	4	L 12–14	–	–
					Cg 1–27	–	–
					Kästenberg	–	–
131	674	Berl. Ress. 2× Rup. Richter 110 Na B	RB	3	L 12–10	–	–
					Cg 1–28	–	–
					Kästenberg	–	–
132	675	Richter 110 Na E	RB	4	L 1–7	2	0,4
					Kästenberg	–	–
133	676	Berl.—Rup. Gauthier	RB	4	L 4–4	3	–
					Cg 5–20	–	–
					Kästenberg	–	–
134	528	Solonis Tiefenb.	S	5	L 8–8	3	0,4
					Cg 13–26	–	–
135	532	Doaniana var. Ponroy	S	5	Cg 4–12	–	–
136	533	Longii Prince	S	5	Cg 13–18	–	–
					Geisenheim	–	–
137	625	M. G. 199–16	VA	5	L 3–25	–	0,8
					Cg 4–13	–	–
					Geisenheim	–	–
138	656	Rip.× Monticola Ravaz 1	VM	4	L 7–25	3,5	3,4
					Cg 5–8	–	–
139	691	York Madeira	AL	1	L 9–16	–	0,5
					Cg 4–26	–	–
140	687	M. G. 107–11	RD	5	L 8–7	3,5	0,5
					Cg 10–26	–	–
141	684	Rup.× Cin. de Grasset	RC	5	L 6–27	2	0,2
					Cg 4–7	–	–
142	685	Cord.× Rup. Mill. 1	RD	4	L 1–24	3,5	0,5
					Cg 10–23	–	–

Tabelle 2 (Fortsetzung)

1934 ∅	1935 ∅	1936 ∅	1937 ∅	1938 ∅	Bemerkungen
9	10	11	12	13	14
1	1	3	3	–	
–	–	–	1	0,2	
0,5	1	1	–	–	
–	–	–	2,5	0,5	
1	1	1,5	–	–	
–	–	–	1,5	0,5	
–	–	1,6	3,2	–	
2	4	2	4	–	
–	3	2	–	–	
3	2	3	–	–	typische diffuse Punktmelanose.
–	–	–	3	1	Schule, starke Punktmelanose.
–	3	1	–	–	
2	–	1,2	2	–	Flecken- u. Flächenmelanose vom Rande beginnend.
2,5	2	3	2	–	
0,5	1	1	1	–	
–	–	–	1	0,5	
1,5	1	1	1	–	
–	–	–	0	0	
1	–	2	3	–	
–	–	–	0	0	
1,5	–	1	1	–	
–	–	–	1,5	1	
1	–	1,5	–	–	
–	–	–	1	1	
–	1,2	0,6	1	–	
1,5	–	0	1	–	
–	–	–	1	0	
–	0,5	0	0,8	–	
0,5	1	0	2	–	
–	0,5	0	0,8	–	
0,5	–	0	–	–	
–	–	–	–	0,4	
–	1	0,5	1	–	
1	1	1	1	–	
–	–	–	1	0,5	
–	–	–	0,5	0,4	
–	–	–	1,5	0,4	
–	1	0	2,7	–	
1,5	1	–	2,5	–	
–	–	–	1	0	
–	0	0,1	–	–	
2	3	3	3	–	
–	–	–	3	1,5	
1,5	3	2	2	–	
–	–	–	1	0,2	
1,5	2	3,5	3	–	
–	–	–	2,5	0	
1	1	0	0,5	–	
–	–	–	0,5	0,4	
1	1,5	2,5	–	–	
–	–	–	1	1	

Tabelle 2 (Fortsetzung)

Lfd. Nr.	H. N.	Sortenbezeichnung	Blut	Geschl.	Standort	1930 ∅	1933 ∅
1	2	3	4	5	6	7	8
143	548	Ca 216–3	RS	3–4	L 8–19	2,5	0
					Cg 2–8	–	–
144	551	Rip. candicans	RS	4	L 7–3	3	–
					Cg 13–21	–	–
145	522	Offenau 6–1	VBS	5	L 1–4	2,5	–
					Cg 13–7	–	–
146	523	Offenau 6–2	VBS	4	L 1–5	3,5	–
					Cg 13–8	–	–
147	524	Richter 31	BS	3–4	L 13–7	–	–
					Cg 2–4	–	–
					Kästenberg	–	–
148	555	Offenau 5 J	VRS	4	L 5–10	3,5	0
149	557	Offenau 5 V	VRS	4	L 5–22	2	1,2
150	561	M. G. 202–5	SD	5	L 8–10	3	–
					Cg 10–28	–	–
151	562	Sol.×York Mad. G. 159	SAL	1	L 8–20	–	0
					Cg 5–4	–	–
152	565	Sol.×York Mad. G. 162	SAL	1	L 8–23	3	0
					Cg 5–27	–	–
153	619	M. G. 106–8	V_2RD	5	L 11–21	2	–
					Cg 10–27	–	–
					Kästenberg	–	–
154	622	C. 554–5	VRAM	5	L 7–20	3,5	–
					Cg 4–21	–	–
					Geisenheim	–	–
155	623	C. 554–6	VRAM	5	L 1–9	2,5	1
					Cg 4–23	–	–
					Geisenheim	–	–
156	658	G. 188	VAL	1	L 7–13	3	1,6
					Cg 5–2	–	–
157	681	Champini var. Ramsey	RJ	5	N 10–24	–	–
					Cg 4–11	–	–
158	683	de Lézignan	RA	5	L 8–2	1	0,2
					Cg 4–15	–	–
159	177	M. G. 141	EV	3–4	L 1–10	–	0
					Cg 7–27	–	–
					Geisenheim	–	–
160	178	M. G. 141 A	EV	2–4	L 1–11	–	0
					Cg 7–28	–	–
					Geisenheim	–	–
161	179	M. G. 143 A	EV	1	L 2–8	0,5	0,2
					Cg 8–5	–	–
					Geisenheim	–	–
162	181	M. G. 143 B	EV	4	L 2–9	2,5	0,4
					Cg 8–3	–	–
					Geisenheim	–	–
163	182	G. 62	EV	5	Cg 8–11	–	–
					Geisenheim	–	–
164	186	Oberlin 702	EV	5	K 20–4	–	–
165	187	Oberlin 705	EV	1	K 11–3	–	–
					Geisenheim	–	–
166	188	Oberlin 716	EV	1	K 21–4	–	–

Tabelle 2 (Fortsetzung)

1934 ∅	1935 ∅	1936 ∅	1937 ∅	1938 ∅	Bemerkungen
9	10	11	12	13	14
1	1	0,5	–	–	
–	–	–	1	0	
1	–	2	1	–	Schule, wenig Punktmelanose.
–	–	–	1	0	
1,5	–	2	–	–	Schule, wenig Punktmelanose.
–	–	–	3,5	1,5	
1,5	–	2,5	–	–	ungleichmäßig verteilte Flächenmelanose; Schule, wenig Punktmelanose.
–	–	–	1	0,5	
1,5	–	1	0,5	–	
–	–	–	1,5	1	
–	1	0,5	0,5	–	
1	1	0	2	–	
1	3	2,5	1	–	
2	–	1	1	–	Schule, wenig Punktmelanose.
–	–	–	1	0,5	
1,5	1	2	2	–	
–	–	–	3	1	
1,5	4	2	–	–	
–	–	–	–	0	
1,5	–	2	–	–	
–	–	–	1,5	0,5	
–	1	0,5	1	–	
2,5	–	3	2	–	
–	–	–	3,5	1,5	
–	3	2,3	–	–	
2	2	2,5	–	–	
–	–	–	3,5	1.5	
–	3	2,3	–	–	
2,5	3	3	3	–	
–	–	–	3,5	2	
–	2	–	1	–	
–	–	–	1,5	0,4	
1	1	0	1	–	
–	–	–	2	0,4	
0	0	0	–	–	
–	–	–	0	0	
–	0	0	0	–	
0	0	0	0	–	
–	–	–	0	0	
–	0	0	0	–	
0,5	0	1,5	1	–	
–	–	–	0	0,2	
–	0,1	0	0	–	
2	2	2	2	–	
–	–	–	1,5	0,2	
–	2	0,2	–	–	
–	–	–	1	0,2	
–	0	0	–	–	
–	2	–	1	–	
–	0,1	0	–	–	
–	–	–	2	–	
–	2	–	2	–	

Tabelle 2 (Fortsetzung)

Lfd. Nr.	H. N.	Sorten-bezeichnung	Blüt	Ge-schl.	Standort	1930 ∅	1933 ∅
1	2	3	4	5	6	7	8
167	190	Oberlin 595	EV	1	K 17–4	–	–
					Cg 8–12	–	–
168	193	Oberlin 604	EV	1	K 18–4	–	–
					Cg 8–15	–	–
					Geisenheim	–	–
169	194	Oberlin 605	EV	1	K 19–4	–	–
					Cg 8–17	–	–
					Geisenheim	–	–
170	195	Rip.× Gutedel Ghs.	EV	1	L 13–17	1,5	1,2
					Cg 8–19	–	–
171	196	G. 43	EV	1	L 2–12	–	0,4
					Cg 8–20	–	–
					Geisenheim	–	–
172	197	Gutedel× Rip.G. 45	EV	1	L 2–14	2	0,8
					Cg 8–21	–	–
173	199	G. 200	EV	1	L 2–27	3	0,2
					Cg 8–23	–	–
174	200	G. 201	EV	1	L 3–1	2,5	0,2
					Cg 8–24	–	–
175	211	E. M. 142	EV	1	L 3–2	0	0
					Cg 10–30	–	–
176	213	G. 57	EV	3–4	L 3–8	1,5	0,6
					Cg 8–25	–	–
177	214	G. 58	EV	1	L 3–9	4	2,4
					Cg 8–26	–	–
178	215	G. 194	EV	1	L 3–10	3	2,8
					Cg 8–27	–	–
179	216	G. 195	EV	1	L 3–11	4	2,6
					Cg 8–28	–	–
180	217	G. 208	EV	1	L 3–12	3	–
					Cg 8–29	–	–
181	227	G. 26	EV	5	L 8–25	3	0
					Cg 9–5	–	–
182	230	G. 48	EV	5	L 9–1	3	0,8
					Cg 9–8	–	–
183	231	G. 49	EV	2–4	L 9–2	2	0,2
					Cg 9–9	–	–
184	235	G. 110	EV	1	L 9–6	3,5	0
					Cg 9–13	–	–
					Geisenheim	–	–
185	238	G. 145	EV	5	L 9–9	3	0,6
					Cg 9–16	–	–
186	239	G. 151	EV	5	L 9–10	3	2
					Cg 9–17	–	–
187	242	G. 204	EV	4	L 9–13	3	1,8
					Cg 9–20	–	–
188	243	G. 208	EV	1	L 9–14	–	0,8
					Cg 9–21	–	–
189	244	G. 209	EV	1	L 9–15		
					Cg 9–22	–	–
190	336	Terras 20	ER	1	L 7–11	2	0
					Cg 3–9	–	–
191	338	Ganzin 1	ER	4	L 2–18	3	0
					Cg 3–11	–	–
					Geisenheim	–	–

Tabelle 2 (Fortsetzung)

1934 ∅	1935 ∅	1936 ∅	1937 ∅	1938 ∅	Bemerkungen
9	10	11	12	13	14
–	3	–	2	–	Die starke Fleckenbildung stammt sicherlich größtenteils von *Plasmopara*.
–	–	–	1,5	0,2	
–	2	–	2	–	
–	–	–	0	0	
–	0,5	–	0	–	
–	0	0	1	–	
–	–	–	0	0	
–	1	–	0	–	
2	1	–	1	–	
–	–	–	1	0	
1,5	1	0,5	1	–	
–	–	–	1	0,2	
–	2	0	–	–	
1,5	1	1	1	–	
–	–	–	0,5	0	
1,5	1	0,5	–	–	
–	–	–	0	0	
1	1	0	1,5	–	
–	–	–	1	0	
0,5	0	0	0	–	
–	–	–	0	0	
1,5	1	1	2	–	einzelne Punktnekrosen, die zu Flächenmelanose zusamenlaufen.
–	–	–	1,5	0	
2	2	3	2	–	
–	–	–	1,5	0	
2	2,5	1	2	–	
–	–	–	1,5	0,5	
2	2	0	–	–	interkostal absterbende Zellpartien.
–	–	–	2,5	1,5	
–	–	0	–	–	
–	–	–	2,5	1,5	
2	2	2	–	–	
–	–	–	1,5	0,5	
2,5	–	3	1	–	unregelmäßig verteilte Fleckenmelanose.
–	–	–	1	0	
2	1	0	–	–	
–	–	–	1,5	0,2	
1,5	2,5	2,5	–	–	
–	–	–	1,5	0	
–	–	0	0,7	–	
2	2	2	1	–	unregelmäßig verteilte, teilweise flächige Fleckenmelanose = *Vinifera*-Typ.
–	–	–	1	0,5	
3	1	2	2	–	
–	–	–	1,5	0,5	
3	2	3	2	–	
–	–	–	1,5	0	
3	4	2	4	–	Punktmelanose, die deutlich den Nerven folgt.
–	–	–	2,5	0	
–	–	–	2	0,5	
1	0	0	0	–	
–	–	–	0,5	0	
1	1	0,5	1	–	
–	–	–	2	0,5	
–	0,1	0	0	–	

Tabelle 2 (Fortsetzung)

Lfd. Nr.	H. N.	Sortenbezeichnung	Blut	Geschl.	Standort	1930 ∅	1933 ∅
1	2	3	4	5	6	7	8
192	339	Ganzin 2	ER	3–4	L 2–19	0,5	–
					Cg 3–12	–	–
					Geisenheim	–	–
193	342	C. 601	ER	1	K 11–2	–	–
					Cg 3–16	–	–
194	343	C. 603	ER	1–2	K 1–3	–	–
					Cg 3–17	–	–
195	344	C. 93–5	ER	1	Kästenberg	–	–
196	353	M. G. 33 A, Na. A	ER	5	Oo 10	–	–
					Cg 3–24	–	–
197	354	M. G. 33 A, Na. B	ER	5	L 2–21	0,5	0
					Cg 3–25	–	–
198	355	M. G. 33 A, Na. C	ER	1	Cg 3–21	–	–
					Kästenberg	–	–
199	356	M. G. 33 A_1	ER	3–4	Cg 3–26	–	–
200	362	C. 1202	ER	1	L 2–23	0	1,6
					Cg 3–30	–	–
201	363	C. 1202 Sel. 1–10–6	ER	1	L 12–22	0	0
202	377	falsche G. 19	ER	4	L 1–2	0,5	0,2
					Cg 10–12	–	–
203	319	M. G. 41 B	EB	5	L 2–4	3	1,5
					Cg 1–3	–	–
					Geisenheim	–	–
204	320	M. G. 41 B Kloster	EB	5	L 12–12	–	–
					Kästenberg	–	–
205	321	M. G. 41 B Pécs.	EB	5	L 12–11	–	0,4
					Cg 1–6	–	–
206	322	M. G. 41 B Engers	EB	4	L 2–7	1	–
					Cg 1–8	–	–
					Kästenberg	–	–
207	323	G. 143	EB	4	K 21–3	–	–
					Cg 1–14	–	–
208	258	197 G. Ti.	ES	1	L 12–23	2	0
					Cg 9–27	–	–
209	260	G. 131	ES	1	L 3–15	4	1,4
					Cg 9–29	–	–
210	262	G. 153	ES	1	L 3–17	3,5	2,2
					Cg 10–1	–	–
211	263	G. 154	ES	3–4	L 3–18	2,5	1,8
212	264	G. 155	ES	2–4	L 3–19	2,5	1,6
					Cg 10–3	–	–
213	266	G. 157	ES	1	L 3–21	2	2,6
					Cg 10–5	–	–
214	267	G. 158	ES	3–4	L 3–22	3	1,2
					Cg 10–6	–	–
215	332	Mal. 150–9	ERB	4	L 1–14	2,5	1
					Cg 3–14	–	–
					Geisenheim	–	–
216	333	Mal. 150–15	ERB	4	L 2–2	1,5	–
					Cg 3–15	–	–
					Geisenheim	–	–

Tabelle 2 (Fortsetzung)

1934 ∅	1935 ∅	1936 ∅	1937 ∅	1938 ∅	Bemerkungen
9	10	11	12	13	14
0,5	–	0	1	–	
–	–	–	1	0	
–	2,5	0,8	–	–	
–	2	–	2	–	
–	–	–	2,5	1	
–	0	–	2	–	
–	–	–	3,5	1	
–	1	0	0,5	–	
–	1	–	1	–	
–	–	–	1	0	
0,5	1	0	1	–	
–	–	–	1	0,5	
–	–	–	2	0,5	
–	0	0	1	–	
–	–	–	3	1	
0,5	1	0	0	–	
–	–	–	1	0	
1	1	0,5	0	–	
1	1	0,5	–	–	
–	–	–	0	0,2	
1,5	1	1,5	1	–	
–	–	–	1	0	
–	2	0	–	–	
3	–	2,5	2	–	
–	0,8	0	0,5	–	
3,5	3	2,5	1	–	starke Braunfleckigkeit auf der Unterseite.
–	–	–	1,5	0,5	
1	–	0,5	1	–	
–	–	–	1	0,2	
–	0,8	0	0,4	–	
0	–	–	2	–	
–	–	–	2,5	2	
1	–	0	–	–	
–	–	–	0	0	
3	3	2,5	2,5	–	typische Punkt- und Fleckenmelanose gemischt, interkostal.
–	–	–	3	1,5	
3,5	–	2	3	–	Flächenmelanose.
–	–	–	3,5	3	
1,5	1	2,5	–	–	
1,5	1	3	2,5	–	diffuse Punkt-, Flecken- und Flächenmelanose.
–	–	–	2,5	1,5	
3	3	3	2,5	–	
–	–	–	2,5	1,5	
2	1	0,5	2	–	
–	–	–	2,5	1	
1	–	1	2	–	Schule, wenig Punktmelanose.
–	–	–	2	1,3	
–	0	0	–	–	
1,5	–	0,5	2,5	–	
–	–	–	3	1,5	
–	0	0	1	–	

Tabelle 2 (Fortsetzung)

Lfd. Nr.	H. N.	Sortenbezeichnung	Blut	Geschl.	Standort	1930 ∅	1933 ∅
1	2	3	4	5	6	7	8
217	459	M. G. 142 B	ED	1	L 1–12	–	0
					Cg 10–29	–	–
218	309	Oberlin 782	EVL	1	K 22–4	–	–
					Geisenheim	–	–
219	315	Früher Burgund. G 17	EVD	1	L 10–11	2	–
					Cg 10–18	–	–
					Geisenheim	–	–
220	271	Offenau 7–4	EVRS	5	L 1–6	1,5	–
					Cg 13–9	–	–
221	273	Offenau 47–1	EVRS	1	L 1–8	2,5	–
					Cg 13–11	–	–
222	464	Herbemont	ECA	1	L 12–19	–	–
					Cg 5–17	–	–
					Kästenberg	–	–
					Neustadt	–	–
					Durchschnittsbefall	2,4	1,0

IV. Vererbungsverhältnisse

Über die genetischen Bedingungen dieser nekrotischen Fleckenbildung, der falschen Melanose der Reben, liegen meines Wissens außer gewissen Ansätzen bei SEELIGER (1925) noch keine weiteren Untersuchungen vor. Auf Grund seiner orientierenden Untersuchungen nahm aber SEELIGER (1933) an: „. . . daß diese Krankheit oder — falls sich später ein Erreger nachweisen lassen sollte — die Disposition dieser Krankheit erblich ist." SEELIGER vertrat weiterhin die Ansicht, daß die Möglichkeit besteht, auf dem Wege der Auslese bzw. Züchtung melanosefreie oder melanosewiderstandsfähige Formen zu erhalten. Die Richtigkeit dieser Annahme ist zwar nicht zu bezweifeln; es sind aber bis heute noch keine experimentellen Beweise dafür gegeben.

Um nun den Wert der bislang bekannten melanosefreien Sorten als Träger von Genen der Melanosefestigkeit kennenzulernen, mußte man also systematisch ihre Nachkommen auf das Auftreten dieser nekrotischen Fleckenbildung prüfen. Schon SEELIGER hatte, um Aufschluß über die Vererbungsverhältnisse der Melanose zu erhalten, bereits damit begonnen, Kreuzungsfamilien zwischen melanosefreien und melanoseanfälligen *Vitis riparia*-Varietäten und anderen Rebensorten der Unterlagensammlung herzustellen. Die von SEELIGER (1925) an einjährigen Sämlingen gemachten Beobachtungen lassen aber noch kein klares Bild erkennen, weil die Sämlinge in jüngeren Jahren diese Fleckenbildung nur in sehr geringem Umfange zeigen, und weil hierfür mehrjährige Beobachtungen erforderlich sind. Diese von SEELIGER erwähnten und auch noch andere Kreuzungskombinationen, die an sich mit anderen Zielen durchgeführt wurden, sind für die nachstehend geschilderten Untersuchungen benutzt worden.

Tabelle 2 (Fortsetzung)

1934 ∅	1935 ∅	1936 ∅	1937 ∅	1938 ∅	Bemerkungen
9	10	11	12	13	14
0,5	1	0	0	–	
–	–	–	0	0	
–	1	–	1	–	
–	–	0	2	–	
2,5	–	2,5	2	–	Fleckenmelanose; Unterseite
–	–	–	2,5	0,5	braune Punktnekrosen.
–	–	0	1,9	–	
0,5	–	1	–	–	Schule, wenig Punkt-
–	–	–	1	0	melanose.
1	–	2	–	–	Schule, wenig Punkt-
–	–	–	1,5	0,2	melanose.
1	–	0,5	1	–	
–	–	–	1	0	
–	0,5	0	0,2	–	
–	0,2	0,5	0,1	–	
1,5	1,5	1,2	1,5	0,5	

Leider ist ja die Weinrebe, wie auch NEGRUL (1936) festgestellt hat, ein Objekt, das für genetische Studien sehr unbequem ist. Darüber hinaus ergibt sich die Schwierigkeit, daß die Beobachtungen an einem Material durchgeführt wurden, das nur zum Teil zu diesem bestimmten Zweck angefertigt worden war, und an dem durch Selektionen nach anderen züchterischen Gesichtspunkten bereits etliche Varianten ausgemerzt wurden. Zur Prüfung der Frage, ob die Erscheinung „Melanose" als Merkmal erblich bedingt ist oder nicht, oder ob sie das Symptom einer Krankheit ist, für die eine erbliche Disposition gegeben sein muß, wurden auch Sämlingsfamilien ausgewertet, die nicht mehr vollständig waren. Da aber kaum anzunehmen ist, daß Reblausanfälligkeit und die Anlage zur Melanose korrelative Merkmale sind, kann diese Tatsache wohl bei der weiteren Betrachtung unberücksichtigt bleiben.

Die bekannten Rebensorten sind durchweg komplizierte Heterozygoten. Ein Merkmal Nekrosebildung oder Nekroseresistenz kann deswegen dennoch relativ einfach genetisch fundiert sein. Es ist aber immerhin zu erwarten, daß man es mit einer nicht leicht zu übersehenden Polygenie zu tun hat. Man muß deshalb wie beim Alkaloidgehalt der Lupinen (HACKBARTH und v. SENGBUSCH 1935) auch hier damit rechnen, daß zur Ermittlung des Erbmodus eine sehr große Anzahl von Varianten erforderlich ist. STRAIB (1935) hat zwar in einem analogen Fall bei der Blattnekrose des Weizens wahrscheinlich gemacht, daß diese Nekrose durch einen einzigen (rezessiven) Faktor vererbt wird. Aber selbst um solches fehlerkritisch zu ermitteln, sind Familien mit einer Anzahl von Varianten notwendig, wie sie bei den Reben nicht erstellt werden können. Außerdem ist zu beachten, daß das Merkmal „Melanose" sehr erheblich von Außenbedingungen beeinflußt wird, wie wir es im vorigen Abschnitt kennengelernt haben. Was man hier, d. h. bei einer diesbezüglichen Auswertung von Sämlingsfamilien, erwarten darf, ist bestenfalls eine gesicherte Andeutung dafür, daß erbliche Bedingtheit im Spiele ist.

Betrachtet man nun das für Rebenzüchtungen schon sehr umfangreiche Zahlenmaterial dieser Sämlingsfamilien-Bewertungen, so erkennt man, daß,

Tabelle 3 Übersicht über das Herausspalten von Sämlingen Neigung der Eltern

Sämlings-Nr.	Mutter	H.N.	Vater
Kreuzungsfamilien			
Na 56	Riparia G. 73	79	× Riparia G. 1
Na 274	Berlandieri-Riparia Tel. e	472	× Riparia G. 1
Na 230	Riesling		× Riparia G. 1 A
Na 47	Solonis × Riparia G. 178	541	× Solonis × Riparia C. 1616
Na 258	Riparia — Rupestris G. 11	570	× Rupestris G. 9
Na 276	Berlandieri — Riparia Tel. g	474	× Berlandieri × Riparia C. 157–11
Selbstungsfamilien			
Na 3	Riesling × Riparia G. 194	215	/ S.
Na 325	Riparia × Gamay Ob. 604	193	/ S.
Na 4	Gutedel × Riparia	197	/ S.

genau wie bei den Sorten, die Schwankungen im Auftreten der nekrotischen Flecke von Jahr zu Jahr sehr groß sein können. Wir haben von den 25 Sämlingsfamilien mit ihren rund 2000 Sämlingen, von denen mehrjährige Bewertungsergebnisse vorliegen, nur einige typische herausgegriffen, um zu zeigen, daß die Zahl der Sämlinge, die in mehreren Jahren nur geringe Fleckenbildung gezeigt haben, von der Neigung der Elternsorten zur Nekrosebildung abhängig ist. Die Zahlen, auf deren Wiedergabe im einzelnen hier verzichtet werden soll, zeigen, daß die Schwankungen im Auftreten der Flecke bei den einzelnen Sämlingen in einigen Familien nicht so stark sind, wie wir es früher bei den Sorten bemerkt hatten. Diese geringeren Schwankungen stellen wir besonders bei den Familien fest, bei denen die Elternsorten nur geringe oder mittlere Fleckenbildung aufgewiesen haben.

Die Zusammenstellung der Familienergebnisse (Tabelle 3) zeigt, daß unterschiedliche Anteile von Sämlingen mit geringer Neigung zur Fleckenbildung auftreten. So beträgt der Anteil guter Sämlinge 43,5 %, wenn beide Eltern geringe Fleckenbildung in den entsprechenden Beobachtungsjahren aufgewiesen haben. Der Anteil fleckenarmer Sämlinge beträgt aber nur 9,2 %, wenn zwei Eltern mit starker und mit mittlerer Neigung zur Melanose gekreuzt wurden. Leider war keine Kreuzungskombination vorhanden, bei der beide Elternteile eine starke Neigung zur Melanose besitzen*).

Auch die Selbstungsfamilien aus Sorten mit unterschiedlichem Melanoseauftreten, bei denen es sich um eine F_2 aus der Kombination *Riparia* × *Vinifera* handelt, zeigen ein gleichsinniges Verhalten. Hier spaltet bei dem einen Elter mit starker Melanose eine geringere Anzahl (= 12 %) guter Sämlinge heraus als bei einer Sorte mit schwacher Fleckenbildung (= 35 %).

Wir kommen damit zu ähnlichen Ergebnissen wie BRAUN (1938) bei seinen Untersuchungen über die Frage der Vererbung von Krebs- und Schorf-

*) Die seinerzeit neu angefertigten Sämlingsfamilien der verschiedenen Kombinationen sind in den Kriegs- und Nachkriegsjahren verlorengegangen.

mit geringer Fleckenbildung bei verschiedener zur Nekrosebildung *Tabelle 3*

H. N.	Anzahl der Sämlinge	Fleckenbildung der der Eltern	Anteil der Sämlinge mit Fleckenbildung nicht < 1
71	119	mittel × stark	9,2 %
71	44	schwach × stark	16 %
72	67	schwach × stark	16 %
538	55	mittel × mittel	27 %
133	55	mittel × schwach	22 %
520	55	schwach × schwach	43,5 %
	98	stark	12 %
	150	mittel	20 %
	107	schwach	35 %

resistenz der Kartoffelsorten, obwohl wir auf eine fehlerkritische Betrachtung der Bewertungsergebnisse oder gar eine Faktorenanalyse des Verhaltens gegen die Melanose aus den dargelegten Gründen von vornherein verzichtet haben.

Die vorliegenden Befunde geben nicht die Möglichkeit, etwas über den Erbmodus der Melanoseanfälligkeit oder -resistenz bei *Vitis* zu sagen. Daß es sich bei der Melanose auch um ein erblich bedingtes Merkmal oder um die erblich bedingte Disposition einer Krankheit handelt, geht aber wohl aus diesen Ergebnissen hervor, und es läßt sich auch der Schluß ziehen, daß es sehr wohl möglich ist, auf dem Wege der Kombinationszüchtung durch Wahl geeigneter Ausgangspflanzen und Selektionen aus den Familien Sorten zu schaffen, die von der melanotischen Fleckenbildung immer frei sind. Ob dies erforderlich und erwünscht ist, sollen die weiteren Betrachtungen zeigen.

V. Verlauf der Melanose und Einfluß der Außenfaktoren

A. Licht

Zwei Tatsachen müssen besonders erwähnt werden, die für die späteren Betrachtungen wichtig sind, die aber gleichzeitig zeigen sollen, wie schwierig es bei einer geringen Anzahl von Einzelbeobachtungen ist, zu einer endgültigen Urteilsbildung über den Anfälligkeitsgrad einer Rebensorte gegen die Melanose zu kommen. Vor allem bei den Sämlingsquartieren mit engerem Zeilen- und Stockabstand konnten wir bemerken, daß an den Rändern der Quartiere vielfach die Melanose stärker in Erscheinung tritt als im Inneren der Pflanzungen. Hiervon wurden hauptsächlich die Süd-, Ost- und Weströnder der Quartiere betroffen. In den Sortimentsquartieren trat diese Erscheinung zunächst nicht so deutlich auf, weil die Stock- und Zeilenabstände wesentlich größer sind. Bei näherer Betrachtung im Verlaufe mehrerer Jahre fanden wir dann, daß diese Randwirkung sich nur in einem frühzeitigeren Beginn der

Melanose auswirkt, weil sich bei der Bewertung im Spätherbst diese Unterschiede meist ausgleichen. Bei ganz oder einseitig freistehenden Stöcken läßt sich, wenn sie überhaupt zu Melanosebefall neigen, in der Regel eine deutliche Beziehung zwischen Stärke der Fleckenbildung und Himmelsrichtung nachweisen. Diejenigen Blätter, die ihre Spreiten nach Süden und Südwesten richten, sind in solchen Fällen besonders stark von der Melanose betroffen. Ebenso erscheinen die Teile der einzelnen Blattflächen am stärksten verfärbt, die von den einfallenden Sonnenstrahlen unter dem größten Einfallswinkel betroffen werden. Es ist dies als ein deutlicher Einfluß der Sonnenbestrahlung auf das Auftreten der Melanose zu verzeichnen.

Tabelle 4

Verlauf der Melanose bei einigen Stöcken des Sortimentes und Wirkung der Beschattung durch den Vorderstock

(Erklärung der Bewertungszahlen siehe Seite 269)

Lfd. Nr.	H. N.	Sortenbezeichnung	Blut	Geschlecht		Termine der Beobachtung 22. 8. 37			21. 9. 37			12. 10. 37		
						unten	mitte	oben	unten	mitte	oben	unten	mitte	oben
1	32	Rip. Geneva 1	V	5	vorderer Stock	3	2	0	4	3	1	4	3	1
					hinterer Stock	2	1	0	4	3	1	4	3	1
2	45	Rip. grand glabre	V	5	vorderer Stock	1	0	0	1	1	1	2	1	1
					hinterer Stock	0	0	0	1	1	0	1	1	1
3	70	Rip. Geisenheim	V	4	vorderer Stock	1	1	0	3	2	1	3	2	1
					hinterer Stock	0	0	0	2	1	0	2	2	3
4	80	Rip. G. 74	V	4	vorderer Stock	0	0	0	1	1	0	2	1	0
					hinterer Stock	0	0	0	0	0	0	1	1	0
5	577	Rip. — Rup. G. 88	VR	5	vorderer Stock	1	1	0	4	3	1	4	3	2
					hinterer Stock	1	1	0	3	2	1	3	2	2

Es ist schon früher mitgeteilt worden, daß die Melanose an den ältesten Blättern der Stöcke oft schon im Sommer beginnt und dann im Verlauf des Jahres spitzenwärts fortschreitet. Ein kleiner Ausschnitt aus den Bewertungszahlen einiger Stöcke des Jahres 1937 mag verdeutlichen, wie die Melanose im Laufe des Jahres von unten nach oben fortschreitet und gleichzeitig an Stärke zunimmt (Tabelle 4). (In diesem Jahre war die Bonitierung so durchgeführt worden, daß der untere, der mittlere und der obere Teil der Stöcke getrennt bewertet wurden, siehe S. 269.) Aus den Zahlen der Tabelle 4 erkennt man

weiter, daß das Auftreten der Melanose jeweils bei den hinteren Stöcken jeder Sorte, die auf Grund der Anlage des Quartiers im Schatten des Vorderstockes stehen, verzögert ist. In den meisten Fällen werden aber bei der letzten Bonitierung doch noch die Befallszahlen des Vorderstockes erreicht.

B. Witterung

Wie die Sortenzusammenstellung und vor allem der am Schluß errechnete Durchschnittswert der einzelnen Jahre zeigt (Tab. 2), gibt es Jahre mit stärkerem Auftreten dieser Flecke und solche, in denen die Melanose zurücktritt. Dieses unterschiedliche Verhalten der einzelnen Jahre wird besonders deutlich, wenn man Befallsklassen bildet, indem das durchschnittliche Mittel aller Bonitierungen = 1,4 als Mitte für die Befallsklassen gewählt wird, um einen relativen und keinen absoluten Wert zu verwenden.

Wir haben dabei folgendermaßen eingeteilt:

Klasse 1: Befallszahlen 0—0,7 = gar kein oder sehr geringes Auftreten von Melanose.
Klasse 2: Befallszahlen 0,8—1,4 = geringes Auftreten von Melanose.
Klasse 3: Befallszahlen 1,5—2,7 = mittleres Auftreten von Melanose.
Klasse 4: Befallszahlen 2,8—4,0 = starkes bis sehr starkes Auftreten von Melanose.

Tabelle 5

Verteilung des Melanosebefalls der einzelnen Sorten (siehe Tabelle 2) auf vier Anfälligkeitsklassen

	1930	1933	1934	1935	1936	1937	1938
Klasse 1	8,6%	50,7%	10,6%	17,7%	42,6%	23,4%	76,4%
Klasse 2	7,3%	18,3%	30,0%	33,2%	16,3%	27,1%	12,5%
Klasse 3	42,4%	25,8%	52,8%	33,7%	31,8%	36,4%	10,1%
Klasse 4	41,7 %	5,2%	6,6%	15,4%	9,3%	13,1%	1,0%
Durchschnittsbefall des Jahres (s. Tab. 2)	2,4 = stark	1,0 = gering	1,5 = mittel	1,5 = mittel	1,2 = etwas schwächer	1,5 = mittel	0,5 = sehr schwach

Man erkennt aus der Übersicht (Tabelle 2 und 5), daß Jahre mit stärkerem und schwächerem Auftreten der Melanose abgewechselt haben. Nach den Mitteilungen von Muth (1928) war anzunehmen, daß die Jahreswitterung einen Einfluß auf das Auftreten der falschen Melanose hat. Auf Grund des vorliegenden Zahlenmaterials wurde nun untersucht, ob zwischen der Stärke des Auftretens der Blattflecke und der Witterung in den einzelnen Beobachtungsjahren eine Beziehung besteht.

Das Jahr 1930 war ein Jahr überdurchschnittlichen Auftretens von Blattflecken. Mag auch gerade in diesem Jahre, in dem die Beobachtungen nicht von mir selbst durchgeführt bzw. geleitet wurden, sondern dessen Bewertungszahlen ich die Beobachtungen Bethmanns und Seeligers zugrunde legte, vielleicht ein etwas anderer Maßstab angelegt worden sein, so ist trotzdem an dem stärkeren Auftreten der Melanose in diesem Jahre nicht zu zweifeln.

Betrachten wir die Verteilung auf die Befallsklassen, so sehen wir, daß die Klassen 3 und 4, also mittlere bis sehr starke Fleckenbildung, weit über 80 % der geprüften Sorten umfaßt. Die Witterung in diesem Jahre ist dadurch besonders gekennzeichnet, daß der Austrieb der Reben verhältnismäßig früh erfolgte und dank der guten Holzreife und des günstigen Wetters des vorangegangenen Jahres und infolge der günstigen Frühjahrswitterung im Mai sehr schnell vonstatten ging. Auch der Juni, der sehr niederschlagsarm war, aber sehr viel Sonnenscheinstunden brachte, war für die Weiterentwicklung der Stöcke sehr günstig. Obwohl der Monat Juli kühl und regnerisch verlief, genau wie die erste Hälfte des Monats August, setzte dann eine sehr warme und sonnenreiche Periode ein, die die weit entwickelten Reben einer schnellen Reife zuführte. Bei den Edelsorten war eine besonders frühe Reife der Beeren zu verzeichnen. Die weitere Witterung des Jahres, vor allem des Monats Oktober, begünstigte besonders die Holzreife*).

Tabelle 6

Vergleich zwischen der Grenze der Melanose und der Holzausreifung an einem Klon von *Riparia* × *Rupestris* C. 3309 mit typischer „*Rupestris*-Melanose" (siehe S. 308)

(Die Zahlen geben die Anzahl Knoten, von unten gezählt an, nachdem keine Melanose bzw. Holzbräunung mehr festzustellen war.)

Lotte:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Grenze der Melanose:	8	10	10	10	10	10	10	11	11	11	11	11	11	11	12	12	12	14	15
Grenze der Holzbräunung:	3	5	5	3	1	3	4	5	4	8	3	2	9	7	5	5	5	9	9

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß das starke Auftreten der Melanoseflecke im Jahre 1930 wohl auf die außerordentlich frühzeitige und starke Entwicklung der Reben in den Frühjahrs- und Frühsommermonaten zurückzuführen sein wird. Am 18. Juni wurden in diesem Jahre an einigen Unterlagensorten bereits Trieblängen von fast zwei Meter gemessen. Der trockene und sonnenreiche Juni hat dann, da im April und Mai reichlich Regen gefallen war, die Reife des Holzes sehr stark gefördert.

Das nächste Beobachtungsjahr 1933, das sich durch verhältnismäßig geringes Auftreten der Melanose auszeichnet, zeigt auch eine ganz andersartige Verteilung der Befallsklassen. Die Klassen 1 und 2, also die mit geringer Fleckenbildung, enthalten diesmal annähernd 70 % der Sorten, wobei die Klasse 1 mit über 50 % sehr stark vertreten ist. Bei der Hälfte aller geprüften Stöcke ist also nur ein sehr geringes Auftreten der nekrotischen Flecke zu verzeichnen gewesen.

Betrachten wir nun den Witterungsverlauf dieses Jahres. Der Austrieb der Reben erfolgte später als im Vorjahre. Die Verzögerung betrug fast 14 Tage und war wohl vor allem durch die hohe Schneedecke

*) Die Aufzeichnungen über den Witterungsverlauf und über das Wachstum der Reben in den Jahren 1930 bis 1935 stellte mir liebenswürdigerweise Herr LANGBEIN, der ehemalige Leiter der Weinbauverwaltung Naumburg, zur Verfügung.

bedingt, die eine schnelle Bodenerwärmung im Frühjahr verhinderte. Da die Monate Mai und Juni verhältnismäßig feucht und kühl verliefen, waren die Reben nicht so wachstumsfreudig wie im Vorjahr und zeigten eine deutliche Entwicklungshemmung. Hauptschuld an dieser gehemmten Entwicklung trugen die kalten Nächte der letzten Maihälfte, wo bei nächtlicher Reifbildung die Temperaturen bis zum Gefrierpunkt zurückgingen. In manchen Lagen ist es auch bei den amerikanischen Unterlagsreben zu Spätfrostschäden gekommen. Die Trieblängen einzelner Unterlagssorten, wie z. B. Riparia × Rupestris M. G. 101—14 und Trollinger × Riparia G. 26 usw., betrugen Ende Juni nur einen Bruchteil von denen um die gleiche Zeit des Vorjahres. Die Monate Juli und August waren zwar warm und trocken und brachten viel sonniges Wetter, konnten aber das Wachstum des Vorjahres nicht mehr einholen. Die Traubenreife, die den Winzer ja immer am meisten interessiert, trat in diesem Jahre ganz besonders spät ein. Infolge des langanhaltenden Triebwachstums der Unterlagsreben, bedingt durch das feuchtwarme Wetter in den Sommermonaten, war die Holzreife stark verzögert und unbefriedigend. Auch die verhältnismäßig günstige Witterung der Monate September und Oktober konnte hieran nichts mehr ändern. Meist waren in diesem Jahre nur zwei Drittel oder sogar die Hälfte der Rutenlängen ausgereift.

In diesem Jahre ist also ein später Beginn der Vegetationszeit mit verzögertem Wachstum zu verzeichnen und, obwohl später üppiges Wachstum eingesetzt hat, ist doch nur eine geringe und unzureichende Ausreifung des Holzes erfolgt.

Das Auftreten der melanotischen Flecke im folgenden Jahre 1934 entspricht dem Durchschnitt. Die Verteilung der Anfälligkeitsklassen ist aber anders als bei den gleich noch zu besprechenden späteren Jahren 1935 und 1937 mit gleichem Durchschnittsbefall. Auf die Befallsklassen mittel bis sehr stark entfallen 1934 60 % der Sorten. Der Witterungsverlauf zeigte in diesem Jahre folgendes Bild. Infolge günstiger Witterungsverhältnisse in der zweiten Winterhälfte erwärmte sich der Boden schnell, und gleichzeitig förderte die sommerliche Wärme im April den Austrieb der Reben, der deshalb ziemlich früh einsetzte. Die Entwicklung machte weiterhin schnelle und gute Fortschritte. Das Wetter in den übrigen Monaten gestaltete sich sehr sonnig und warm, allerdings waren die Niederschläge, abgesehen vom Monat August, immer zu gering und lagen weit unter dem 16jährigen Mittel. Das Triebwachstum der amerikanischen Unterlagsreben war trotz der Trockenheit erstaunlich gut, und die Reife des Holzes setzte sehr früh ein. Mit diesem Witterungsverlauf gehört das Jahr 1934 zu den besten Weinjahren. In einigen Fällen ist es allerdings infolge der großen Trockenheit zur Abstoßung der älteren Blätter gekommen.

Das Auftreten der Melanose im Jahre 1935 entspricht wieder dem Durchschnitt, nur können wir eine andersartige Verteilung der Befallsklassen feststellen als z. B. 1934. Auf die Klassen 1 und 2 mit geringem Befall kommen wenig mehr als 50 %. Der Austrieb erfolgte in diesem Jahre infolge häufiger kalter Regengüsse im April etwas später als im Vorjahr, und die Entwicklung

wurde durch Schneeschauer und Frost zu Beginn des Monats Mai und durch das weiterhin kühle Wetter dieses Monats empfindlich gehemmt. Das nun einsetzende feucht-warme Sommerwetter begünstigte jedoch die Entwicklung der Reben in ungewöhnlichem Maße. Ab Juli war dann die Witterung mit hoher Wärme und viel Sonnenschein sehr günstig, wenn auch sehr niederschlagsarm. Die starke Trockenheit und die weiterhin günstige Witterung im August und September bedingten einen frühen Abschluß der Vegetation.

Im Jahre 1936 ist das durchschnittliche Auftreten der Melanose an dem geprüften Sortiment wieder geringer, was sich vor allem darin auswirkt, daß die Befallsklasse 1 mit keinem oder nur spurenweisem Auftreten der Blätter über 40 % der Sorten umfaßt. Der Befall ähnelt damit dem des Jahres 1933. Über den Witterungsverlauf ist folgendes zu sagen. Der April als wichtigster Vegetationsmonat verlief kühl, naß und wolkig. Infolge dieses ungünstigen Wetters setzte der Austrieb der Reben erst Anfang Mai ein. Auch der Mai verlief kühl und brachte nur wenig Sonnenschein. Ein erneuter Kälterückfall Ende des Monats verursachte weitere Verzögerung in der Rebenentwicklung. Das weitere Sommerwetter verlief dann sehr wechselnd, war aber im allgemeinen zu kühl und brachte zu wenig Sonnenscheinstunden. Die Ausreife des Holzes war infolgedessen sehr spät und unbefriedigend. Als der am 12. Oktober einsetzende Frühfrost das Laub zum Absterben brachte, hatte die herbstliche Verfärbung eben erst eingesetzt, und die Holzreife der amerikanischen Unterlagsreben war infolgedessen nur befriedigend.

Im Jahre 1937 entspricht das Auftreten der Melanose wieder dem Durchschnitt. In der Verteilung auf die einzelnen Klassen verhält sich dieses Jahr ungefähr so wie 1935. Die Witterung des Monats April brachte frühen Austrieb der Reben. Im Monat Mai mit hoher Tages- und Nachtwärme und überdurchschnittlicher Sonnenscheindauer war, genau wie im Monat Juni, die Triebentwicklung der Reben sehr günstig. Die Monate Juli und August mit ihrem sprunghaften, abwechselnd warmen und kühlen Wetter hemmten bei geringer Sonnenscheindauer die Entwicklung so, daß zum Schluß nur eine normale Ausreifung erfolgte. Durch günstigen Witterungsverlauf im September ging aber das Holz der amerikanischen Unterlagsreben in einen guten Reifezustand über.

Das Jahr 1938 ist in bezug auf das Auftreten der Melanose als ein extremes zu bezeichnen. Der durchschnittliche Befall aller Sorten beträgt nur 0,5, und es entfallen 76 % auf die Befallsklasse 1 mit keiner oder sehr geringer Fleckenbildung. Der Witterungsverlauf des Jahres 1938 war für den Weinbau außerordentlich ungünstig. Der März mit seinem frühlingshaften Wetter, wobei Tagestemperaturen bis 22 ° C erreicht wurden, bedingte einen sehr frühen Vegetationsbeginn. Infolge dieser vorzeitigen Entwicklung wirkte sich ein Witterungsrückschlag im April katastrophal aus. Zehn Frosttage in diesem Monat mit Temperaturen bis — 5,4 ° C und meist trüben Tagen hemmten das Triebwachstum außerordentlich und vernichteten einen großen Teil der jungen Triebe, die schon bis 5 cm Länge erreicht hatten. Im Mai traten nochmals Spätfröste auf, so daß die Triebentwicklung der Pflanzen

nochmals einen Rückschlag erhielt. Die weitere Sommerwitterung verlief dann nicht ungünstig, konnte aber die schweren Entwicklungsrückschläge nicht mehr aufholen lassen. Anfang September sank die Temperatur wiederum bis nahe an den Gefrierpunkt, so daß das Wachstum der Reben bei ebenfalls kühlen Tagestemperaturen fast zum Stillstand kam. Als Ergebnis dieses ungünstigen Witterungsverlaufes war eine nur als mittelmäßig zu bezeichnende Holzreife zu verzeichnen.

Aus den soeben mitgeteilten Beobachtungen läßt sich erkennen, daß eine deutliche Parallele zwischen dem Witterungsverlauf in den einzelnen Jahren und dem Auftreten der Melanose besteht. Alle Jahre, in denen der Witterungsverlauf besonders günstiges Wachstum der Reben gestattet und in denen eine besonders gute und frühe Holzreife eintritt, sind Jahre mit stärkerem Auftreten der Melanose. In den Jahren, in denen infolge ungünstiger Witterungsverhältnisse das Wachstum der Reben gehemmt ist oder die Stöcke durch Spätfröste in ihrer Gesamtentwicklung zurückgehalten werden und die Holzausreifung verzögert oder schlecht ist, zeigen nur geringes Auftreten der melanotischen Fleckenbildung.

Allerdings beobachten wir beim Auftreten der Melanose ein gleiches Verhalten, wie es Hassebrauk (1939) beim Weizenbraunrost festgestellt hat. Es gibt offenbar kein Gesetz objektiver Gültigkeit für die Einwirkung der Außenfaktoren auf das Anfälligkeitsverhalten. Wir sehen, daß auch bei einzelnen Rebensorten unter Umständen eine sogar völlig gegenläufige Abweichung von der Regel auftritt. Manche Sorten und auch manche Sämlinge folgen in ihren Befallsschwankungen nicht dem allgemeinen Durchschnitt, sondern verhalten sich völlig anders. Welche Gründe hier maßgeblich sind, ist unklar. Im ganzen gesehen ist aber wohl an dem Zusammenhang zwischen dem Witterungsablauf und dem Melanosebefall, den ja auch Muth (1928) bereits vermutete, nicht zu zweifeln. Allerdings ist die vielfach gemachte Angabe, daß feuchtes und kühles Wetter im Sommer das Auftreten der Melanose beschleunige (Schmitthenner [1908] u. a.), damit nicht in Einklang zu bringen. Wir möchten auf Grund unserer eingehenden mehrjährigen Beobachtungen vermuten, daß diese Angaben, die sich ja nur auf Gelegenheitsbeobachtungen stützen, auf einem Irrtum beruhen. Man hat wohl diesen falschen Schluß gezogen, weil die Melanose erst im Herbst besonders sinnfällig wird, wenn kühle und neblige Tage einsetzen.

C. Boden und Düngung

Wie Muth (1928) und Seeliger (1933) vermuteten, haben die verschiedenen Bodenverhältnisse einen Einfluß auf das Auftreten der Melanose. Leider standen für eine Nachprüfung dieser Frage keine älteren Schnittanlagen mit umfangreichen Sortimenten des gleichen Ausgangsmaterials (Klone) auf verschiedenen Böden zur Verfügung. Die wenigen vorliegenden Sortenbeobachtungen auf schwerem Lößboden (Versuchsfeld der Biologischen Zentralanstalt), Kalkhanglagen (Saalhäuser) und Sandboden (Eulau und Goseck) genügten für eine endgültige Beurteilung nicht.

Um festzustellen, ob verschiedene Erdmischungen einen Einfluß auf das Auftreten der Melanose haben, wurden im Jahre 1936 einjährige bewurzelte Stecklinge in Mitscherlich-Gefäßen ausgepflanzt. Geprüft wurden drei Rebensorten, die bereits im ersten Stecklingsjahre normalerweise stärkeren Melanosebefall aufweisen (siehe Tabelle 2), und zwar die Sorten: Riparia splendens, Riparia G. 1 und Aestivalis G. 171.

Die Erdmischungen bestanden aus: a) gewöhnlicher Pflanzerde, b) Gemisch aus drei Teilen Sand und einem Teil Erde, c) Gemisch aus einem Drittel Lauberde, einem Drittel Mistbeeterde und einem Drittel Rasenerde, d) Gemisch aus einem Teil kleingestoßener Muschelkalksteine und einem Teil Gartenerde, e) Lößlehm. Alle Töpfe wurden in sechsfacher Wiederholung angelegt.

Auf eine Darstellung der Ergebnisse dieses Versuches im einzelnen kann hier verzichtet werden, weil sich beim Auftreten der Melanose im Laufe der dreijährigen Beobachtungen keinerlei Unterschiede gezeigt haben.

Ähnlich ergebnislos verliefen auch Düngungsversuche im Freiland an einer jeweils dreißig Einzelstöcke umfassenden Klonenpflanzung. Hierbei wurden in den Jahren 1936, 1937 und 1938 jedesmal drei nebeneinander stehende Stöcke zusätzlich mit N, P, K, Borsäure und Kaliumpermanganat in unterschiedlichen Mengen gedüngt. Bis zum Jahre 1943 war an keinem der zusätzlich behandelten Stöcke eine Veränderung im Auftreten des Melanosebefalls gegenüber den unbehandelten Stöcken zu beobachten.

VI. Aetiologische Deutungsversuche

Nachdem im vorangegangenen Teil eine eingehende Symptombeschreibung der Melanose erfolgte, wir den Verlauf dieser Erscheinung und das Verhalten der einzelnen Rebensorten kennengelernt haben, weiterhin versucht wurde, die Vererbungsverhältnisse zu klären, wenigstens in bezug auf die Frage, ob eine Vererbbarkeit vorliegt oder nicht und einige Beziehungen des Auftretens dieser Krankheit zu äußeren Faktoren festgestellt wurden, soll nun versucht werden, die Ursache der Melanose zu ermitteln.

Welche Ursachen können für das Auftreten einer derartigen nekrotischen Fleckenbildung der Blattspreiten überhaupt in Frage kommen:

A. Parasitäre Ursachen

1. Virosen — Abbaukrankheiten

Die Frage, ob es sich bei der Melanose vielleicht um eine Viruserkrankung handelt, kann weder bejaht noch verneint werden. Neuerdings wird vor allem von französischer Seite (HUGLIN 1952) eine infektiöse Abbaukrankheit bei den Reben beschrieben, die in ihren Krankheitserscheinungen mit gewissen Kartoffelvirosen Ähnlichkeit haben soll und als nekrotisches Mosaik bezeichnet wird. Die mikroskopischen Untersuchungen HUGLINS haben ergeben, daß dieses nekrotische Mosaik gewöhnlich bei den Schließzellen der Spaltöffnungen beginnt und mit bloßem Auge zunächst nicht sichtbar ist. Diese Nekrose-

bildung, von der also angenommen wird, daß es sich um eine viröse Erkrankung handelt, obwohl der eindeutige Nachweis noch offensteht, hat aber mit der Melanose, wie wir sie gekennzeichnet haben, nichts zu tun. Der wesentlichste Unterschied besteht darin, daß auch junge Blätter frühzeitig befallen werden und in der Folge die normale Blattentwicklung gehemmt wird, so daß eigenartige Blattasymmetrien entstehen.

Auch zu den als Abbauerkrankungen der Rebe bekannten Erscheinungen, über die Stellwaag (1948) vor kurzem eine kritische Zusammenstellung veröffentlicht hat, bestehen offenbar keinerlei Beziehungen. Alle Kennzeichen der „Reisigkrankheit", wenn wir diesen Begriff von Jöhnssen (1933) und Schneiders (1934, 1936, 1937) mit Stellwaag als Oberbegriff, der auch unter den Bezeichnungen „court noué" und „roncet" (Viala, 1893) oder „arriciamento" (Petri, 1929) geführten Abbauerscheinungen der Reben, nehmen wollen, fehlten bei unseren von der Melanose befallenen Stöcken. Es treten also weder die „Pantanellischen Stäbchen" im Holz (Pantanelli, 1912/1913), noch die starke Geizbildung, noch die Kurzgliedrigkeit oder Fransenblättrigkeit oder sonstige Wachstumsstörungen bei melanosekranken Stöcken auf.

Nach Stellwag (1948) ist aber auch für alle anderen Abbaukrankheiten der Reben, von denen angenommen wird, daß es sich um Viruserkrankungen handelt, der schlüssige Beweis der Virusnatur bisher nicht erbracht worden. Branas (1948) (zitiert nach Gärtel, 1953) dagegen zieht aus seinen vierjährigen Versuchen den Schluß, daß die infektiöse Abbaukrankheit der Rebe eine durch mehrere Viren erzeugte Krankheit ist, die sich immer durch Pfropfung übertragen läßt. Im Boden soll diese Übertragung durch die Reblaus erfolgen (Branas, Bernon, Levadoux, 1937 u. 1946). Allerdings sind diese Ergebnisse auch in Frankreich nicht überall anerkannt worden (Gärtel, 1953).

Wir haben, zwar in kleinem Umfange, Pfropfungen mit Holz von melanosefreien Sorten auf Holz von Sorten, bei denen gewöhnlich sehr starke Melanose auftritt, und umgekehrt durchgeführt. Es haben sich aber im Verlauf mehrerer Beobachtungsjahre keinerlei Anhaltspunkte dafür ergeben, daß diese Erscheinung übertragen wird. Auf Grund der völlig negativen Ergebnisse soll auch hier auf eine genaue Wiedergabe der Versuchsbeobachtungen verzichtet werden.

Für eine endgültige Entscheidung, ob es sich bei der Melanose nicht vielleicht doch um eine Viruserkrankung handelt, genügt ein derartig negatives Ergebnis natürlich nicht. Es ist ja allgemein bekannt, wie schwer es unter Umständen fällt, die Folgen einer chronischen Virusverseuchung von nichtinfektiösen Schädigungen zu unterscheiden (Gäumann, 1951).

2. Mykosen, Bakteriosen

Die Frage, ob es sich bei der falschen Melanose um den Befall mit Pilzen handelt, hatten wir bereits einleitend als völlig negativ erledigt. Es bleibt noch die Frage, ob es sich vielleicht um eine Tracheomykose handelt, daß also durch ein Welketoxin die Nekrosebildung in den Blättern verursacht wird. Auch

hierfür liegen keinerlei Anhaltspunkte vor, weil in dem Holz oder in den Blattstielen und auch in den Wurzeln der melanotischen Stöcke niemals irgendein pilzlicher Erreger festgestellt werden konnte. Vor allem spricht auch die Tatsache, daß die älteren Blätter die Melanoseerscheinung zuerst aufweisen und die jüngeren und die Geizblätter erst sehr viel später und nur selten und schwach davon betroffen werden, durchaus dagegen. Die Blattnekrosen, die durch toxische Stoffe, wie z. B. Patulin, Fusarinsäure, Lycomarasmin usw. hervorgerufen werden, treten sehr sporadisch an einzelnen Blättern der befallenen Pflanzen, dann aber oft sehr heftig auf, während andere völlig gesund erscheinen. Ein Bild also, wie wir es bei dem Auftreten des Melanose niemals beobachtet haben.

In neuerer Zeit ist von OSTERWALDER (1944) auch eine Bakterienblattkrankheit aus der Schweiz beschrieben worden, deren Symptombeschreibung in manchen Fällen der Melanose zu ähneln scheint, weil junge Blätter ebenfalls davon verschont bleiben. Von uns wurden aber „derartige Bakterienmassen", wie sie OSTERWALDER vor allem in den Atemhöhlen der Spaltöffnungen gefunden hat, niemals beobachtet.

3. Tierische Schädlinge

Auch für die Tatsache, daß tierische Schädlinge als Ursache der Melanose in Frage kommen, ließen sich keinerlei Anhaltspunkte finden. Die Tatsache, daß die ersten nekrotischen Zellen im Inneren der Blätter auftreten, lassen keinen Angriff von außen vermuten. Es bestünde noch die Möglichkeit, daß ein Wurzelschaden durch Nematoden vorliegt, und daß toxische Ausscheidungen dieser Schädlinge mit in den Saftstrom gelangen (GOFFART 1951) und die Nekrosen verursachen, weil verschiedentlich auch Nematoden als Schädlinge von Reben beobachtet wurden (MENZEL 1941). Es gilt hier wohl der gleiche Einwand wie bei den toxischen Stoffen der Tracheomykosen; außerdem wurden irgendwelche Beschädigungen oder Schädlinge an den Stöcken niemals beobachtet.

B. Unbelebte Krankheitsursachen

1. Verbrennung durch Bekämpfungsmittel, Spritzbrühe, Rauchschäden

Die Frage, ob es sich bei den geschilderten Erscheinungen um eine Beschädigung durch Spritzbrühen handeln könnte, braucht nicht weiter untersucht zu werden, da die amerikanischen Unterlagsreben in unseren Quartieren niemals gespritzt werden. Daß es sich um eine Beschädigung durch Rauchgase handelt, ist nach Lage der Dinge, da die Melanose an den verschiedensten Orten aller Weinbaugebiete fast gleichmäßig auftritt, wohl kaum anzunehmen; außerdem müßten dann nach SORAUER (1904) die Nekrosen immer bei den Schließzellen beginnen.

2. Transpirationsstörungen, Hitzeschäden, Wassermangel

Es erhebt sich nun die Frage, ob das Auftreten der Melanose mit der Wasserversorgung in Zusammenhang steht. Von früheren Beobachtern der Melanose ist zwar mehrfach die Vermutung ausgesprochen worden, daß es

sich bei diesen Blattnekrosen um Transpirationsstörungen handelt (Schmitthenner 1908, Kroemer 1918, Muth 1928), aber weitere Einzelheiten darüber wurden nie mitgeteilt. Über das Auftreten von Vertrocknungs- und Hitzeschäden am Reblaub in trockenen Jahren und an besonders ungünstigen Standorten liegen dagegen eine Reihe von Beobachtungen vor (Molz 1909). So weist Molz (1906) darauf hin, daß die Brunissure auch als Folge von Trockenheit in hitzigen Böden auftreten kann. Nach Petri (1933) zeigt die Unterlagensorte *Riparia* × *Rupestris* C. 3309 in Italien starke Trockenschäden, die sich in Fleckenbildung und Anfälligkeit für Anthracnose und Melanose äußern sollen.

Auch Branas (1930) berichtet über derartige Rostfleckigkeit und Dürrwerden an Blättern von Direktträgern, also Sorten, die aus Kreuzungen der Ertragsrebe *Vitis vinifera* mit amerikanischen Rebenarten hervorgegangen sind. Das Erscheinungsbild dieser Fleckigkeit, die von Branas als „Roussure" bezeichnet wird, und nur an den Hybriden, nicht aber an den Sorten von *Vitis vinifera* beobachtet wurde, hat eine auffällige Ähnlichkeit mit der falschen Melanose. Diese „Roussure", die ebenfalls nur an den älteren und nicht an jungen Blättern in Erscheinung tritt, zeigt alle Abstufungen vom Absterben einiger weniger Zellen über wenige große tote Fleckenzonen bis zum Blattfall. Als Ursache dieses Gewebetodes nimmt Branas stärksten Wasserentzug unter dem Einfluß extremer Temperaturverhältnisse an. Zweigelt (1930) weist ebenfalls schon auf den gewissen Parallelismus zwischen der „Roussure" und jenen Veränderungen hin, die zur Herbstverfärbung und zum herbstlichen Abbau der alternden Blätter bestehen.

Zschokke (1931) hat dann in sehr eingehenden Untersuchungen die Frage der Hitzeschäden geprüft, die, soweit es die Weinbeeren betrifft, von Müller-Stoll (1939) weitgehend bestätigt wurden. Beide Autoren sind der Ansicht, daß diese Austrocknungsschäden an den Reben dann auftreten können, wenn nach lang andauerndem regnerischen Wetter im Hoch- oder Spätsommer extreme Hitze einsetzt. Diese Hitze, verbunden mit starker Sonneneinstrahlung, soll dann auf die zart herangewachsenen Rebteile besonders ungünstig einwirken. Zschokke macht die Feststellung, daß sich ein Wassermangel zuerst in den unteren, älteren Blättern einstellt, während die am Trieb höher stehenden, günstiger zum Saftdruck gestellten jüngeren Blätter der Austrocknung weniger ausgesetzt sind. An den einzelnen Blättern vertrocknen jene Stellen der Blattspreite zuerst, die am ungünstigsten zur Wasserzufuhr liegen, also die Blattpartien zwischen den Hauptnerven, die nur noch von kleinsten Äderchen durchzogen sind, und der Blattrand. Tritt die Austrocknung durch plötzlich einsetzende große Hitze ein, so erscheinen die Trockenflecke oft als scharf abgegrenzte „tote Inseln" inmitten der sonst gesunden grünen Blattfläche. Bei weiterer Fortdauer der Trockenperiode werden nach und nach auch höher an den Lotten stehende ausgewachsene Blätter von der Erkrankung ergriffen, so daß diese von unten nach oben fortschreitet.

Zschokke tritt mit Recht der Ansicht entgegen, daß die manchmal punktförmig auftretenden Flecke dadurch zustandekommen sollen, daß ein auf dem

Blatt sitzender Wassertropfen als Brennglas wirkt. Wenn solche Einzeltropfen als Sammellinsen wirken, so könnte ihr Brennpunkt nicht in die Blattfläche fallen. ZSCHOKKE nimmt an, daß die von Wassertropfen bedeckten Blattstellen, sofern eine Verdunstung unmöglich und eine dadurch bewirkte Abkühlung ausgeschlossen ist, sich unter der Einwirkung intensiver Sonnenstrahlung auch ohne Linsenwirkung unmittelbar selbst auf einen Temperaturgrad erwärmen, den sie nicht zu ertragen vermögen. Weiterhin macht er darauf aufmerksam, daß diese Dürrflecke am Reblaub keineswegs reine Vertrocknungserscheinungen sind, weil sie sonst zunächst grün bleiben müßten. Die Braunfärbung der Blattstellen spricht nach seiner Ansicht dafür, daß es sich um eine sekundäre Erscheinung handele, die nicht unbedingt mit dem Tod des Blattgewebes verbunden zu sein braucht.

Durch die Untersuchungen SZIRMAIS (1938) an Paprika wissen wir, daß derartige Hitzeschäden, die sich in scharf begrenzten Flecken auf den Früchten bemerkbar machten, durch Temperaturen im Bereich von 49 bis 55 ° C unter einem Wassertropfen entstehen können, ohne daß eine unmittelbare Sonnenbestrahlung erforderlich ist. Von SZIRMAI sind auf den Feldern in Ungarn Höchsttemperaturen von 58 ° C festgestellt worden.

Wie wir aus diesen Ausführungen ersehen, scheint eine gewisse Beziehung zwischen diesen Dürreflecken, nach ZSCHOKKE, und der Melanose, vor allem der früher gekennzeichneten Flecken- bzw. Fiederstreifenmelanose, zu bestehen, wenn seine Beobachtungen auch nur an Kulturreben durchgeführt wurden. Wir hatten ja früher ebenfalls auf die Beziehungen zwischen dem Auftreten der Melanose und der Belichtung hingewiesen. Es ist möglich, daß ein Teil der von uns als Melanose bezeichneten Erscheinungen auf die von ZSCHOKKE angegebenen Ursachen zurückzuführen ist, vor allem, wenn man bedenkt, daß die amerikanischen Vitisarten, wie z. B. *Vitis riparia,* nach den Untersuchungen von SCHANDERL (1930) als ausgesprochene Schattenpflanzen anzusehen sind, die dann wohl gegen starke Besonnung besonders empfindlich sein müßten.

Daß diese angeführten Ursachen als Erklärung für das Auftreten der melanotischen Flecke nicht ausreichten und auch für die Erscheinungen, wie sie ZSCHOKKE und BRANAS beschreiben, nicht genügen, geht aus der Tatsache hervor, daß die Melanose auch bei Stöcken im Gewächshaus und auch bei beschatteten Blättern, wenn auch verspätet, auftritt. Allerdings ist, wie wir gesehen haben, die Melanose bei beschatteten Stöcken oft schwächer ausgebildet und in ihrem Verlauf verzögert.

Daß ein akuterWassermangel im Boden diese Erscheinungen hervorrufen kann, scheint nach allen Beobachtungen im Freiland und den Topf- und Stecklingsuntersuchungen wohl ausgeschlossen.

3. Ungünstige Bodenverhältnisse

Wir wissen auch von anderen Kulturpflanzen, daß die physikalische Beschaffenheit des Bodens und dessen chemische Zusammensetzung eine große Rolle beim Auftreten vieler Krankheitserscheinungen spielen. Erinnert sei in

diesem Zusammenhang an die Chlorose der Reben, von der man weiß, daß sie vor allem in schweren, nassen und schlecht durchlüfteten Böden stark in Erscheinung tritt (Maier 1942). Die von Kordes (1937) eingehend untersuchten Nekrosebildungen, verbunden mit frühzeitigen Blattverfärbungen und Wachstumsstörungen an Reben in der Pfalz, konnte er eindeutig auf starke Bodenversäuerung zurückführen. Diese infolge der Bodenversäuerung auftretenden Nekrosen entstehen aber nicht nur an den Blättern, sondern auch an den Trieben und Gescheinen der Stöcke. Interessant ist es, daß Kordes annimmt, daß manche der von Zschokke als Hitzeschäden bezeichneten Blattflecke ebenfalls diese Bodenversäuerung als Ursache haben. Bei unseren stark kalkhaltigen Böden in Naumburg kommt natürlich eine Versäuerung des Bodens als Ursache der Melanose überhaupt nicht in Frage. Da die Melanose auch auf allen übrigen Bodenarten aufgetreten ist, scheinen ungünstige Bodenverhältnisse höchstens die Anfälligkeit gegen die Melanose in geringem Umfange beeinflussen zu können; als letzte Ursache schalten sie wohl aus.

4. Mangel an Grundnährstoffen und Spurenelementen

Nährstoffmangelerscheinungen an Reben sind sehr häufig beschrieben und untersucht worden. Wenn sich diese Untersuchungen auch meistens auf Edelsorten beziehen, so sind doch einige Nährstoffmangelversuche auch schon mit den Unterlagensorten durchgeführt worden.

Stickstoffmangel beginnt nach Stellwaag (1952) mit einer allmählichen Hellgrünfärbung der Blattspreiten, die sich gleichmäßig über das Blatt ausdehnt.

Phorsphormangel bewirkt nach Stellwaag (1949) eine intensivere Ausbildung der Blattfarbe, die wesentlich dunkler ist als bei normal ernährten Reben. Bei starkem Phosphormangel im Boden beginnen nach Herschler (1933, 1936) von den Blatträndern her sich punktförmige Verbräunungen auszubilden, so daß die Spreiten vom Rande her verdorren.

Kalimangelsymptome an Reben treten wegen der leichten Beweglichkeit und der guten Löslichkeit dieses Nährstoffes im Boden am häufigsten auf. Hierbei setzt nach den Untersuchungen von Herschler (1936), Stellwaag (1949) und Wilhelm (1950) eine Verfärbung meist punktförmig in den Interkostalfeldern ein und dehnt sich oft nach wenigen Wochen fast über die gesamte Blattfläche aus. Der Verfärbung folgen dann Absterbeerscheinungen, wobei einzelne Teile mehr oder weniger punktförmig nekrotisch absterben. Diese Nekrosen setzen nach Wilhelm in den Epidermiszellen ein, ergreifen dann in Tiefe und Breite die Zellen des Palisadenparenchyms und dringen nun in das Schwammparenchym bis zur unteren Epidermis vor. Bei sehr starkem Kalimangel treten die Nekrosen flächenförmig interkostal und vor allem besonders am Blattrande auf, der dann vollkommen verdorrt.

Bei Unterlagsreben soll man nach Stellwaag (1952) einen Kalimangel oft noch deutlicher erkennen können als bei den Sorten von *V. vinifera.* Hier beginnt meist eine mosaikartige Aufhellung, indem sich die Stellen zwischen den feinen Adern fleckenweise aufhellen, während die Adern der ganzen

Blattfläche dunkel bleiben. Später bilden sich dann auch hier Randnekrosen. Als weitere Mangelkrankheit ist Magnesiummangel beschrieben worden, der sich nach STELLWAAG (1952) an den Blättern nahezu umgekehrt äußert als der Kalimangel. Die Randzone bleibt grün, während im Inneren der Fläche zwischen den großen Adern schmutzig-braune Flecke entstehen, die schließlich mit einem charakteristischen kreisbogenförmigen Rand eintrocknen. Bei Magnesiummangel bleiben nach STELLWAAG, genau wie bei Eisenmangel, die untersten Blätter des Stockes grün, während nur die obersten sich verfärben.

Weiter hat sich gezeigt, daß Bormangel für die Ertragsreben und auch für die amerikanischen Unterlagsreben sehr nachteilig ist. MAIER (1937) hat wohl als erster experimentell durch Heranzucht von Rebsämlingen in Nährlösungskulturen den Beweis erbracht, daß Bor ein für die Rebe unentbehrliches Element ist. Auch bei Bormangel beobachtet man (WILHELM 1950, 1951, 1952; STELLWAAG 1952) zunächst eine mosaikartige Fleckung der Blattspreiten. Besonders charakteristisch für das Fehlen dieses Elementes im Boden ist das Absterben der Vegetationspunkte, wodurch es natürlich zu schweren Schäden kommt (GÄRTEL 1953).

Diese Aufstellung der Erscheinungen, wie man sie bei Nährstoffmangel an Reben beobachtet hat, zeigt schon, daß man bei der Ausdeutung der Symptome sehr vorsichtig sein muß. Im allgemeinen findet man Mangelkrankheiten nicht an einzelnen Stöcken, sondern je nach den vorliegenden Bodenverhältnissen nester- oder strichweise (STELLWAAG 1952). Hiernach sieht es nicht so aus, als wenn Mangel irgendeines Nährstoffes im Boden die Ursache für diese Fleckenbildung ist. Am ehesten könnte man noch auf Grund des Erscheinungsbildes vermuten, daß hier ein Kalimangel, wenn auch in geringem Grade, vorliegt. Nun hat HERSCHLER (1936) an besonders reich tragenden Stöcken der Kultursorte Silvaner im Weinbaugebiet der Mosel nachweisen können, daß auf nährstoffreichen Böden, die seiner Ansicht nach bestimmt ausreichend mit Kali versorgt waren, der Kaligehalt der älteren Blätter außerordentlich gering ist. Dieser verringerte Kaligehalt einzelner Blätter, vor allem derjenigen, die hauptsächlich der Ernährung der Trauben dienen, machte sich ebenfalls in einer Braunfärbung der Blattspreiten und in der Bildung nekrotischer Flecke bemerkbar. Der Kaligehalt der verfärbten Blätter betrug nach den Analysen HERSCHLERS nur etwa ein Sechstel des Gehaltes normal gefärbter Blätter benachbarter Stöcke, die aber nur den halben Ernteertrag aufwiesen. Die für Massenerträge benötigten hohen Nährstoff- und insbesondere Kalimengen werden nach der Ansicht von HERSCHLER wohl zur Zeit der Traubenreife nicht mehr alle aus dem Boden, sondern zum Teil aus den Blättern des Tragholzes entnommen. Der Kaligehalt der Blätter des Zielholzes, die normale schwache Herbstverfärbung zeigten, betrug zur gleichen Zeit fast das Vierfache.

Schon früher wurde auf die auffallende Ähnlichkeit zwischen dem Erscheinungsbild der Melanose und der von den Franzosen als Brunissure oder Blattbräune bezeichneten Krankheit hingewiesen und die Vermutung ausge-

sprochen, daß es sich um den gleichen Krankheitskomplex handelt. Es ist nun interessant zu erfahren, daß als Ursache für die Brunissure von RAVAZ (1904) die Überproduktion mancher Stöcke an Trauben angesehen wird, die zu einer Verarmung und Erschöpfung des Blattgewebes führen. Nach RAVAZ können alle Ursachen, die diese Verarmung herbeiführen, sei es dadurch, daß sie die Nährstoffaufnahme aus dem Boden erschweren, wie plötzliche Trockenheit, Schädigung der Wurzeln oder Befall durch Parasiten, das Erscheinen der Brunissure begünstigen. WILHELM (1950) weist mit Recht darauf hin, daß RAVAZ auffallenderweise noch nicht zu dem Schluß kam, daß letzten Endes im Kalimangel die Ursache der Brunissure zu suchen ist. Schon RAVAZ stellte nämlich beim Vergleich der Aschensubstanzen in gesunden und kranken Blättern fest, daß hauptsächlich das Kalium in der Asche der kranken Stöcke vermindert ist. Auf Grund der weiteren Untersuchungen von WILHELM und vor allem seiner Düngungsversuche kann wohl kein Zweifel bestehen, daß die in Frankreich unter der Bezeichnung Brunissure bekannte Erscheinung auf Kalimangel, sei es im Boden oder akut durch plötzlichen Entzug aus den reifenden Blättern, zurückzuführen ist. Auch BONNET (1937) hat übrigens im Zusammenhang mit der Kalkernährung der Reben schon darauf hingewiesen und in Düngungsversuchen bestätigt, daß vor allem Kalimangel die Ursache der Brunissure ist.

Aus der Tatsache, daß unter natürlichen Verhältnissen bei Kalimangel zunächst nur langsam und verhältnismäßig harmlos verlaufende Veränderungen in den Zellen vor sich gehen, ohne daß der Kalivorrat im Boden abnorm gering und der Kalispiegel im Blatt ungewöhnlich niedrig ist, vermutet WILHELM (1950), daß der Kalibedarf der Rebe, wohl konstitutionell bedingt, sehr groß ist. Auch die mehr oder weniger starken Blattverbräunungen in Unterlagenschnittgärten, die wohl mit dem identisch sind, was wir als falsche Melanose bezeichneten, sieht WILHELM, obwohl er sie nur im Spätherbst beobachtete, mindestens zu einem Teil als Kalimangelschäden an.

WILHELM nimmt außerordentlich hohe Kalibedarfszahlen für die Reben an, vor allem dann, wenn sie auf kalkhaltigen Böden stehen. Derartig große Mengen an Kalidünger werden wohl in der Praxis, vor allem bei Unterlagensorten, kaum jemals gegeben werden und sind auch bei unseren Anlagen nicht angewendet worden.

Wir möchten uns bis zu einem gewissen Grade der Ansicht WILHELMS anschließen und einen Teil der als Melanose gekennzeichneten Flecke an amerikanischen Unterlagsreben und auch an unseren Edelsorten als Mangel an Kali ansehen. Im Gegensatz zu ihm sind wir aber der Meinung, daß die Witterungsverhältnisse beim Auftreten der Kalimangelsymptome besonders an Unterlagensorten doch eine ausschlaggebende Rolle spielen. Wenn nun unsere, allerdings nur in geringem Umfange durchgeführten zusätzlichen Düngungsversuche keinen sichtbaren Erfolg hatten, so kann dies darauf zurückzuführen sein, daß entweder die erforderliche Menge noch nicht erreicht wurde oder aber, daß doch noch andere Ursachen eine Rolle spielen, wie sie sich bereits in den Untersuchungen HERSCHLERS andeuten.

5. Alters- und Reifeerscheinungen

Wir wollen zum Schluß dieser Betrachtungen auf einen Faktor hinweisen, der in unmittelbarem Zusammenhang mit der eben besprochenen Frage des Kalimangels steht, und zwar handelt es sich um die Alters- und Abbauvorgänge im reifenden Blatt. Es sind gerade in den letzten Jahren eine ganze Reihe von Untersuchungen veröffentlicht worden, die sich mit den physiko-chemischen und den chemischen Veränderungen im alternden Blatt befassen. Leider ist es aus zeitbedingten Umständen bis jetzt noch nicht möglich gewesen, die dort erarbeiteten Methoden auch auf die Rebe anzuwenden.

Auffällig ist, wenn man die Rebstöcke eines Sortimentes mehrmals im Verlaufe des Spätsommers und Herbstes beobachtet, welche offenbar engen Beziehungen zwischen dem Auftreten der Melanose, vor allem dem Fortschreiten der Melanose, und den übrigen Reifevorgängen der Rebtriebe bestehen.

Die von unten nach oben abnehmende Melanose zeigt augenscheinlich die gleiche strenge Abhängigkeit vom Alter des Blattes bzw. der Insertionshöhe, wie sie MICHAEL (1935) bei der Vergilbungsneigung der Blätter nachweisen konnte, und auf die auch schon SACHS (1862) hingewiesen hat.

Unsere vergleichenden Beobachtungen an zahlreichen Reben führten zu dem Ergebnis, daß es Sorten gibt, bei denen sich das Auftreten der Melanose auf den gebräunten, d. h. ausgereiften Triebteil, beschränkt, und Sorten, bei denen die Melanose auch auf die Blätter des grünen, noch nicht ausgereiften Triebteiles übergreift.

Obwohl die Fleckenbildung bei den meisten Stöcken von unten nach oben mit abnehmendem Alter der Blätter sich ebenfalls verringert, also eine offenbar ontogenetisch bedingte Disposition für diese Erscheinung vorliegt, ist meistens keine deutliche Beziehung zwischen der Holzreife und der Melanose festzustellen gewesen. Es gibt aber einige Sorten, bei denen die Grenze der Melanose sehr scharf ist. Wenn bei diesen Stöcken ein Blatt einer bestimmten Insertionshöhe noch deutliche Flecke aufweist, sind alle folgenden jüngeren völlig melanosefrei.

Bei einem Klon der Sorte *Riparia* × *Rupestris* C. 3309 trat dies besonders deutlich in Erscheinung. Beim Auszählen der Insertionshöhe des letzten Melanoseblattes jeder Lotte ergab sich ein Bild, wie es die Tabelle 6*) zeigt. Gleichzeitig wurde hier festgestellt, bis zu welchem Internodium die Holzreife (beurteilt nach der Braunverfärbung) reicht. Wie man sieht, schwankt die Grenze der Melanose bei den einzelnen Lotten nur um einen verhältnismäßig kleinen Wert. Ganz ähnliche Feststellungen ließen sich bei einer Reihe von anderen Sorten, bei denen eine größere Anzahl von Lotten zur Verfügung stand, und die ebenfalls eine mehr oder weniger scharfe Grenze der Melanose aufwiesen, machen. Eine Beziehung zur Holzreife besteht aber offenbar nicht. Wenn diese Beziehungen zwischen dem Auftreten der Melanose und der Insertionshöhe der Blätter nicht immer so klar sind, dann hängt das

*) Siehe S. 296.

vielleicht damit zusammen, daß man den Alterszustand eines Blattes nicht ohne weiteres aus der Insertionshöhe ableiten kann, ein Gesichtspunkt, auf den RICHARDS (1934) besonders aufmerksam gemacht hat. Man ist nicht ohne Einschränkungen berechtigt, die höher inserierten Blätter als jünger zu bezeichnen, weil sie unter anderen inneren und äußeren Bedingungen am Vegetationspunkt angelegt und weiter ausgebildet wurden. Es überlagert sich so unter Umständen das Alter der ganzen Pflanze mit dem Individualalter des Blattes. Es ist aber nach FISCHER (1949) bemerkenswert, daß beide Arten des Alterns im ganzen in der gleichen Richtung zu wirken scheinen.

Am bekanntesten sind ja die Veränderungen des Stickstoff-Stoffwechsels, die mit zunehmendem Alter der Blätter eintreten. Der Gehalt an Gesamtstickstoff ist im allgemeinen in jungen Blättern höher als in älteren. Bei einer geringen Anzahl durchgeführter Stickstoffanalysen an alten Blättern und jungen Triebspitzen konnte diese gleichsinnige Differenz bis in den Spätherbst hinein auch bei den melanotischen Reben immer wieder bestätigt werden.

Wichtiger als der Eiweißgehalt scheint aber für unsere Betrachtung der unterschiedliche Gehalt an Kationen bei Blättern verschiedener Insertion. LAGATU und MAUME (1924) fanden bei den gleichaltrigen Blättern gut ernährter Weinstöcke von Mai bis September eine Zunahme des CaO in der Trockensubstanz von 1,9 % auf 7,0 %, während gleichzeitig eine Abnahme des K_2O von 2,3 % auf 1,4 % erfolgte. Nach RIPPEL (1921) tritt die Abwanderung des Kaliums schon so frühzeitig ein, daß ein Zusammenhang zu der herbstlichen Vergilbung nicht zu bestehen scheint.

Es ist eine oft festgestellte Tatsache, und in der Literatur finden sich viele Beispiele dafür, daß mit dem Alter der Gehalt der Blätter an Kalium abnimmt. Offensichtlich wandert das leicht bewegliche Kalium von den unteren zu den oberen Blättern (SCHMALFUSS 1936), so daß die oberen Blätter mehr oder weniger auf Kosten der unteren leben, was besonders bei Nahrungsmangel deutlich wird. Daß diese Beziehungen zwischen den Blättern verschiedenen Alters auch in bezug auf den Eiweißgehalt bestehen, ist durch umfangreiche Untersuchungen an einer ganzen Reihe von Pflanzen geklärt worden. Es ist aber unklar, ob z. B. im Eiweißhaushalt der Bedarf jüngerer Blätter und auch der Früchte durch ein Konzentrationsgefälle in den älteren Blättern hervorgerufen wird, oder ob umgekehrt der durch einen „Altersfaktor" bewirkte Abbau diese Auswanderung veranlaßt, oder ob beide Ursachen ineinandergreifen (FISCHER 1948). Für das Kalium gelten die gleichen Betrachtungen. Nach PAECH (1940) üben die jüngeren Organe wahrscheinlich wegen ihres hohen Wuchsstoffgehaltes auf alle löslichen organischen Stoffe ebenso wie auf die Mineralsalze eine starke Saugwirkung aus und entführen auf diese Weise den älteren Organen diese Stoffe. Die Entleerung der unteren Blätter tritt vor allem bei Kalimangel im Boden besonders deutlich in Erscheinung.

Diese Abgabe bestimmter Stoffe, die meist schon in der zweiten Hälfte des Sommers beginnt, bedingt, daß alternde Blätter häufig Bilder zeigen, die

den Symptomen des Nährstoffmangels so ähnlich sind, daß man fast von einem „Stickstoff- oder Kaliummangel-Typ" des Alterns sprechen könnte, je nachdem, ob die Blätter über die ganze Fläche vergilben oder vom Rande her absterben (FISCHER 1948).

Bei den Blättern der Bäume und Sträucher sollen die Verhältnisse etwas anders liegen als bei krautigen Pflanzen, von denen bisher die Rede war. Nach MOTHES (1931) zeigen *Syringa*-Blätter nur im Jugendstadium derartige Unterschiede im Stickstoffgehalt und Trockengewicht, dagegen sind ausgewachsene Blätter physiologisch gleichwertig, und die herbstliche Entleerung geht ohne Unterschiede vor sich. Offenbar stellen die Achsenorgane einen großen Reservestoffbehälter dar, so daß die älteren Blätter nicht unbedingt für den Aufbau der jüngeren Organe in Anspruch genommen werden müssen. Die Rebe verhält sich aber offenbar genau wie die krautigen Pflanzen, denn als typische Liane besitzt sie keine Endknospe, sondern wächst bis in den Herbst hinein weiter, bis schließlich die Triebspitzen dem Frost zum Opfer fallen. Die älteren Blätter vergilben im Herbst nicht wie bei unseren Bäumen alle mehr oder weniger gleichzeitig, sondern gehen, wie wir gesehen hatten, entsprechend ihrer Insertionshöhe nach und nach in den Herbstzustand über.

Für unsere Betrachtungen besonders aufschlußreich sind noch die Befunde von BÖTTICHER und BEHRLING (1940), daß bei *Acer pseudoplatanus* die Verringerung des Kaligehaltes in Sonnenblättern schon nach Beendigung des Wachstums einsetzt, während sie bei Schattenblättern erst im Herbst erfolgt. Vielleicht kann man bei einigen Rebensorten eine gleiches Verhalten vermuten.

Die aufgezeigten deutlichen Beziehungen zwischen dem Auftreten der Melanose und dem Alter bzw. der Insertionshöhe der Blätter scheinen deutlich darauf hinzuweisen, daß die letzte Ursache dieser Erscheinung in einem akuten Kalimangel der alternden, in den herbstlichen Reifezustand übergehenden Blätter zu suchen ist.

Wir stehen also im Gegensatz zu einer Reihe von Autoren (SCHMITTHENNER 1911 und STAEHELIN 1927) auf dem Standpunkt, daß durch die Melanose die Holzreife der Triebe nicht ungünstig beeinflußt wird. Es ließe sich eine ganze Reihe von Beispielen dafür anführen, daß Sorten mit ständig starkem Auftreten der Melanose trotzdem jedesmal ein ausgezeichnet ausgereiftes Holz besaßen; eine Tatsache, für die die Sorte Riparia G. 1 besonders bekannt ist. Auf der anderen Seite gibt es aber Sorten, die ebenfalls in fast jedem Jahr ihr Holz gut ausreifen, ohne die geringste Fleckenbildung auf den Blättern zu zeigen.

VII. Besprechung der Ergebnisse

Im Gegensatz zu der Mehrzahl unserer heimischen Holzgewächse, bei denen die Blätter, ohne Absterbeerscheinungen zu zeigen, bis zu Beginn der herbstlichen Verfärbung äußerlich keine Veränderungen aufweisen, tritt bei vielen Rebensorten eine Fleckenbildung in Erscheinung, die darin besteht, daß in den Laubblättern einige Zeit vor Beginn des herbstlichen Abbaues kleinere

oder größere Teile des Blattgewebes absterben und eine Braunfärbung annehmen.

Wie wir einleitend bemerkten, sind ursprünglich eine ganze Anzahl von Namen für diese Erscheinungen gegeben und die verschiedensten Ursachen für das Auftreten dieser Nekrosen vermutet worden. In einigen Fällen konnten mit Bestimmtheit pilzliche Erreger gefunden werden, die nach Reisolierung immer wieder die gleichen Blattfleckenkrankheiten verursachten. Es scheint sicher, daß von den früheren Untersuchern zum Teil verschiedene Krankheiten verwechselt wurden, zum Teil aber auch verschiedene Erscheinungsbilder, die auf ein und dieselbe Ursache zurückzuführen sind, mit verschiedenen Namen belegt wurden.

Die falsche Melanose, wie wir sie abgegrenzt haben, ist sicher mit einer ganzen Reihe von Blattfleckenerkrankungen und als krankhafte Zustände geschilderte Blattverfärbungen, wie Brunissure, Roussure, Maladie de Californie usw. identisch. Unsere histologischen und cytologischen Untersuchungen haben, genau wie diejenigen früherer Beobachter, niemals einen Anhaltspunkt dafür gegeben, daß ein Erreger an der Entstehung dieser Blattfleckennekrose beteiligt ist.

Bei der Untersuchung der Frage, welche Ursachen nun für das Entstehen der Melanose anzunehmen sind, kamen wir zu dem Schluß, daß es sich letzten Endes wohl um eine Reifeerscheinung der Blätter handelt. Derartige Reifeerscheinungen sind nach Sorauer (1903) auch bei anderen Pflanzen schon während der Hauptvegetationszeit zu beobachten. Er vermutet, daß derartige Fälle von fleckenweiser Erkrankung und Absterben einzelner Gewebegruppen mitten im grünen Gewebe mit einer Erschöpfung der Stoffwechselenergie zusammenhängen. Sorauer (1904) vertritt weiterhin die Ansicht, daß derartige Flecke nur dann pathologischer Natur sind, wenn sie an kräftig vegetierenden, verhältnismäßig noch jungen Blättern auftreten. Bei einzelnen Familien treten derartige Fleckennekrosen im normalen Lebensgang auf, und sie sind in den alten Organen als normale Zeichen beginnenden Abbaues aufzufassen. Auch dieser Autor weist schon in bezug auf die Erschöpfung der Stoffwechselvorgänge auf einen eventuell bestehenden Kalimangel hin.

Da innerhalb derselben Sorten bzw. am gleichen Trieb zwischen Melanoseauftreten und herbstlichem Abbau der Laubblätter deutliche Beziehungen bestehen, überrascht nicht, daß das Auftreten der Melanose, wie wir gesehen haben, von Standortsbedingungen — Wärme, Licht usw. — weitgehend abhängig ist. Nach unserer Ansicht wirken die Umweltverhältnisse beim Auftreten der Melanose wohl meist nur auf dem Wege über die Reifebeschleunigung oder Reifeverzögerung und nur selten unabhängig davon. So tritt z. B. die Fleckenbildung, die wir als Rupestris-Melanose gekennzeichnet hatten, immer sehr spät im Jahre auf und macht dann keine großen Fortschritte mehr. Gerade die Formen von Rupestris zeichnen sich aber alle dadurch aus, daß sie besonders späte Holzreife besitzen.

Der Verlauf der Melanose an einem Triebe, an dem das unterste Blatt die stärkste Fleckenbildung aufweist, die dann nach oben mehr und mehr

abnimmt, entspricht ja der schon lange bekannten Tatsache des graduellen Absterbens von Blättern an Langtrieben, das in der gleichen Reihenfolge vor sich geht (DINGLER 1902, 1905). Damit mündet also die Frage nach der Ursache der Melanose in das Problem des „Alterns". Wie wir bereits besprochen hatten, ähnelt ja die Melanose in starkem Maße den Erscheinungen, wie man sie bei Nährstoffmangel, vor allem bei Kalimangel, beobachtet. Man kann sich den Vorgang vielleicht folgendermaßen vorstellen: Im Verlauf der Reifeprozesse am Trieb wird den untersten Blättern Kalium entzogen, wie es ja LAGATU und MAUME (1924) auch bei der Rebe festgestellt haben und wie es von anderen Pflanzen ebenfalls bekannt ist. Dieses Kalium wird entweder für die Ausreifung des Holzes oder für die Weiterentwicklung der Triebspitzen benötigt. Wie die Untersuchungen HERSCHLERS (1936) an Ertragsreben gezeigt haben, scheint ein derartiger Vorgang bei den Reben ein natürlicher zu sein, auch wenn der Boden genügend Kali enthält. Wie man aus vielen Untersuchungen weiß, fördert das Kalium gerade die Kohlenhydratbildung in den Pflanzen, ist also bei der Bildung dieser Stoffe, wie z. B. in der Zuckerrübe, in größeren Mengen erforderlich. Auch die Entwicklung und Güte der Fasern bei Faserpflanzen oder steifhalmigen Gräsern ist von der Menge des zur Verfügung stehenden Kaliums abhängig (NOACK 1936). Man kann sich also leicht vorstellen, daß die Reifevorgänge in den Lotten der Reben, bei denen sowohl große Mengen von Kohlenhydraten eingelagert werden als auch eine verhältnismäßig kräftige Entwicklung aller Faserelemente im Bastteil einsetzt, große Mengen von Kali benötigt werden. Nun setzen im alternden Blatt die Störungen ein, die für einen Kalimangel charakteristisch sind. Ob hierbei auch noch eine Auswaschung an Mineralsalzen, wie es WILHELM (1938, 1950) annimmt, eine gewisse Rolle spielt, ist nicht nachgewiesen. Ob dieser Abtransport des Kaliums aus den älteren Blättern erforderlich wird, weil aus irgendwelchen noch ungeklärten Ursachen nicht genügend aus dem Boden nachgeholt werden kann, bleibt ebenfalls offen. Hier ist aber der Punkt, wo man sich leicht vorstellen könnte, daß die Außenfaktoren, sei es durch Transpirationshemmung, kühle Nächte im Spätsommer und Herbst oder Transpirationsstörungen durch plötzlich einsetzende Hitze u. ä., hemmend oder beschleunigend eingreifen können.

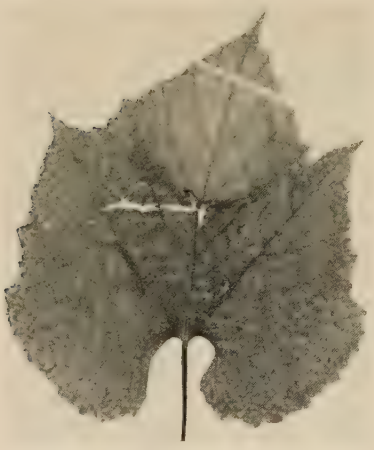


Abb. 18. *Berlandieri—Riparia* Kober 477 BB. Durch Unterbrechung des Hauptnervs ist die Blattspitze frei von Melanose geblieben

Für die Annahme, daß die primäre Ursache der Melanose eine Abwanderung von Stoffen, vermutlich des Kaliums, ist, spricht noch ein weiterer Befund, der mehrfach in unseren Sortimenten beobachtet werden konnte.

(Siehe Abb. 18 u. 19.) Wird nämlich bei einem Blatt die Ableitung durch Unterbrechung eines Hauptnervs teilweise verhindert, so tritt die gleiche Erscheinung ein, die bereits Stahl (1907), Meyer (1918) und Sidorin (1930) in ähnlicher Weise beobachtet haben. Die aus dem Verband gelösten Teile der Blattspreiten bleiben unverändert grün, und die Fleckenbildung tritt nur an dem basalen Teil des Blattes auf, der noch durch den Stiel in normaler Verbindung mit der übrigen Pflanze blieb. Stahl, Meyer und Sidorin vertreten die Ansicht, daß die Verhinderung der Abwanderung von Stoffen bzw. die Anhäufung der abzuleitenden Stoffe die normale Vergilbung verhindert haben. Die gleiche bei der Melanose aufgetretene Erscheinung berechtigt uns wohl, den gleichen Schluß zu ziehen.

Boresch (1938, 1939) weist auf Grund seiner Untersuchungen an Johannisbeersträuchern ebenfalls darauf hin, daß im natürlichen Ablauf der Entwicklung mancher Pflanzen sich ähnliche Vorgänge abspielen wie am Kalimangel-Blatt. Man ist also wohl berechtigt, die untersuchten Vorgänge im Blatt bei Kalimangelkulturen auch auf die Vorgänge im alternden und in den Reifezustand übergehenden Blatt zu übertragen. Ob die an vielen Pflanzen nachgewiesene Verarmung an Kalium eine Folge des Alterns ist, oder ob umgekehrt die Verarmung der Zellen an Kalium das Altern des Blattes hervorruft, ist, worauf wir bereits hinwiesen, ungeklärt. Boresch ist auf Grund seiner Beobachtungen an Kalimangelpflanzen der Ansicht, daß vermutlich die erfolgte Abwanderung des Kaliums als Ursache der Alterserscheinungen anzusehen ist. Interessant für unsere Betrachtungsweise ist die Beobachtung von Boresch, daß die im Inneren eines Johannisbeerstrauches befindlichen Blätter wenigstens am Anfang nicht so stark von den Kalimangelerscheinungen betroffen werden wie die dem Licht exponierten Außenblätter. Die gleiche Erscheinung also, die wir auch beim Auftreten der Melanose feststellen konnten.

Abb. 19. M. G. 101—14 × C. 1616 Offenau 5 C. Durch Unterbrechung ist die Blattspitze frei von Melanose geblieben

Wir hatten früher gesehen, und das stimmt mit den Untersuchungen von Lindenbein (1937) an Kalimangelpflanzen bei Gramineen und beim Inkarnatklee überein, daß die Degeneration im chlorophyllführenden Parenchym der Blätter, und zwar vermutlich in den Chloroplasten selbst beginnt, die sich in eine öltröpfchenförmige Masse umwandeln. Nun haben die Untersuchungen von Noack (1925) gezeigt, daß die photooxydative Wirkung des fluoreszierenden Chlorophylls, wenn sie von ihrem natürlichen Acceptor, der Kohlen-

säure, abgelenkt wird, zur Zerstörung der Chloroplasten und zum Absterben der Zellen führt. Eine derartige Ablenkung der Oxydationswirkung auf das Chlorophyll selbst und auf das Plasma kann durch verschiedene Umstände eintreten. Hierbei entstehen je nach der Pflanzenart fleckenartig absterbende Partien, wobei häufig auch braune Verfärbungen auftreten.

PIRSON (1937) konnte durch seine Untersuchungen an *Chlorella* zeigen, daß bei Zusatz von Kaliumsalzen zu chlorotischen im Wachstum gehemmten Kalimangelzellen die Photosynthese schon innerhalb einiger Minuten erheblich ansteigt, ohne daß in der gleichen Zeit eine Neubildung von Chlorophyll oder Zellsubstanz stattfindet. Daraus geht hervor, welch unmittelbar großen Einfluß das Kalium auf den Assimilationsapparat hat. Umgekehrt läßt sich aus diesem Befund bei Kalimangel, wenn ein bestimmter Kaliumspiegel in den Zellen unterschritten wird, eine direkte Hemmung der Photosynthese ableiten. Die Untersuchungen PIRSONS haben damit nur bewiesen, was GASSNER und GOEZE (1934) bereits vermutet haben, daß die allererste Wirkung des schädlichen Kalimangels in einer Schädigung des Assimilationsvorganges selbst zu suchen ist. Bei völliger Einstellung der Assimilation, wenn irreversible Schäden eingetreten sind, konnte PIRSON auch photooxydative Vorgänge im Sinne NOACKS feststellen, die sich bei seinen Versuchen in einem zusätzlichen Sauerstoffverbrauch bei Belichtung der Kalimangelkulturen bemerkbar machte.

Danach ist es mehr als wahrscheinlich — und wir folgen damit der Ansicht BORESCHS — daß auch die Fleckenbildung auf den alternden Rebenblättern nichts anderes ist als eine photooxydative Selbstzerstörung des Chlorophylls, die auf einem Leerlauf des Assimilationsapparates infolge akuten Kalimangels beruht. Hierbei wird auch die verstärkende Wirkung dieser Erscheinung durch das Licht verständlich, die BORESCH in gleicher Weise bei der Kalimangelchlorose festgestellt hat. Die Sonneneinstrahlung wirkt also nach dieser Auffassung in doppeltem Sinne. Einmal fördert sie die Reifeentwicklung der Triebe, wobei den alternden Blättern Kalium entrissen wird, und zum zweiten wird die photooxydative Wirkung bei starker Einstrahlung auch vermehrt sein*).

Auch das früher geschilderte Auftreten von Anthocyan bei einigen Rebensorten, das in manchen Fällen dem fleckenweisen Absterbeprozeß vorangeht, läßt sich zwanglos in die hier vertretene Auffassung eingliedern. Nach NOACK (1922) kann das Auftreten von Anthocyan als ein Ausdruck geschwächter Assimilation angesehen werden, die auch hier infolge des Kalimangels einsetzt und anfangs zur Anreicherung von Anthocyan führt.

Es wäre nun sehr interessant gewesen, den Kaligehalt nicht nur der verschieden alten Blätter zu untersuchen, sondern auch der Frage nachzugehen, ob die Sorten und Sämlinge, die keine Melanose zeigen, sich vielleicht in bezug auf den Kalistoffwechsel anders verhalten. Wie schon bemerkt wurde, waren

*) Der Einwand, den PIRSON (1939) in einer späteren Arbeit gegen die Auffassung BORESCHS angibt, scheint uns nicht stichhaltig zu sein.

aus zeitbedingten Umständen derartige Analysen zunächst nicht durchzuführen, und es bleibt dies eine Aufgabe für die Zukunft.

Wenn wir als unmittelbare Ursache der Melanose der Reben einen Kaliummangel der reifenden Blätter angenommen haben, der durch den normalen Abzug dieses Nährstoffes aus den Blättern entstanden ist, worauf, bedingt durch den Leerlauf des Assimilationsapparates, eine photooxydative Zerstörung der Chloroplasten einsetzt, der die Nekrosebildung in den Zellen folgt, so bleibt die Frage offen, warum eine ganze Reihe von Rebensorten und auch -sämlingen nicht in dieser Weise reagieren. Wie die Untersuchungen an den Sämlingsfamilien gezeigt haben, ist darüber hinaus die Disposition zu dieser Erscheinung, die man nun kaum noch als Krankheit bezeichnen kann, offensichtlich erblich. Es besteht also bei den Typen, die die melanotische Fleckenbildung aufweisen, eine ganz bestimmte Konstitution, vielleicht eine besondere Neigung zur Nekrosebildung.

Quadt (1953, dort weitere Literatur) stellte in Übereinstimmung mit anderen Autoren fest, daß bei einer ganzen Reihe von Pflanzen in der Beeinflussung erblicher Nekrosen eine bemerkenswerte Übereinstimmung zu der Anfälligkeit bzw. Resistenz dieser Pflanzen besteht. Faktoren, welche die Nekrosebildung fördern, erhöhen auch die Krankheitsfestigkeit gegen pilzlichen Befall. Quadt konstatiert die Tatsache, daß offenbar das gleiche genetische Prinzip sowohl für die erblichen Nekrosen als auch für die hyperergische Krankheitsfestigkeit bei verschiedenen Pflanzen verantwortlich ist. Er zieht den Schluß, daß es sich hier um ein im Pflanzenreich allgemein verbreitetes Prinzip handelt. Auch K. O. Müller (1950) zog auf Grund seiner Untersuchungen mit *Phytophthora* den Schluß, daß die Überempfindlichkeitsreaktion eine für die Angiospermen ganz allgemeine Erscheinung ist. Diese Nekroseneigung beruht aber nicht auf einem speziellen Nekrosegen, sondern ist das Produkt des günstigen Zusammentreffens verschiedener Gene ernährungs- und stoffwechselphysiologischer Art. Vielleicht haben wir auch bei den Rebensorten, die sich durch starkes Melanoseauftreten auszeichnen, Typen mit einer besonders starken Neigung zur Nekrosebildung vor uns. Vielleicht kann man so die Untersschiede im Verhalten der einzelnen Formen erklären. Ob zwischen dieser eventuell vorhandenen Neigung zur Nekrosebildung und der Resistenz gegen pilzliche und tierische Parasiten, wie dem echten und falschen Mehltau und der Reblaus, eine positive Beziehung besteht, müßten weitere Untersuchungen klären.

Zusammenfassung

1. Im Gegensatz zu den meisten anderen heimischen Holzgewächsen tritt bei vielen Rebensorten vor Beginn der herbstlichen Verfärbung eine Fleckenbildung in Erscheinung, die darin besteht, daß auf den Blättern kleinere oder größere Teile des Gewebes absterben und eine Braunfärbung annehmen.

2. Ursprünglich sind eine ganze Anzahl von Bezeichnungen für diese Erscheinung gegeben und die verschiedensten Ursachen für das Auftreten dieser Nekrosen vermutet worden. Es scheint so, als wenn von den früheren Untersuchern zum Teil verschiedene Krankheiten verwechselt wurden, zum Teil verschiedene Erscheinungsbilder, die auf ein und dieselbe Ursache zurückzuführen sind, unter verschiedenen Bezeichnungen geführt wurden.

3. Die bei uns beobachtete Melanose wurde im Gegensatz zu einer in ihrem Erscheinungsbild außerordentlich ähnlichen Fleckenbildung, die durch den Pilz *Septoria ampelina* hervorgerufen wird, als „falsche Melanose" bezeichnet. Das äußere Erscheinungsbild ließ drei verschiedene Typen, für die eine Beschreibung gegeben wird, unterscheiden: 1. Punkt-, Flecken- oder Flächenmelanose, 2. Fiederstreifenmelanose, 3. Reibungsmelanose.

4. Die histologisch-cytologischen Untersuchungen haben niemals einen Anhaltspunkt dafür gegeben, daß parasitäre Erreger an der Entstehung dieser Blattfleckennekrose beteiligt sind.

5. Mehrjährige Bewertungen eines größeren Sortimentes über das Auftreten der Melanose haben ergeben, daß vor allem die Witterungsverhältnisse und einige Außenfaktoren einen starken Einfluß auf diese Fleckenbildung haben. Alle Faktoren, die die Holzausreifung der Rebstöcke fördern, bedingen auch ein früheres und stärkeres Auftreten der Melanose.

6. Wegen der erheblichen Beeinflussung der Merkmalsausbildung „Melanose" durch Außenfaktoren war trotz mehrjähriger Beobachtungen an Sämlingsfamilien verschiedener Kombinationen eine Erbanalyse der Melanoseanfälligkeit nicht möglich. Es läßt sich nur sagen, daß es sich bei der „falschen Melanose" offenbar um ein erblich bedingtes Merkmal handelt, und daß es auf dem Wege der Kombinationszüchtung möglich ist, Sorten zu züchten, die frei sind von dieser Fleckenbildung.

7. Da zwischen dem herbstlichen Abbau der Blätter und dem Auftreten der Flecke deutliche Beziehungen bestehen, kamen wir zu dem Schluß, daß es sich bei dieser „falschen Melanose" letzten Endes wohl um eine Reifeerscheinung handelt. Auf diese Weise läßt sich auch der Einfluß der Außenfaktoren auf diese Erscheinung erklären.

8. Danach scheint als primäre Ursache der Melanose ein akuter Kalimangel der alternden Blätter, denen dieser Nährstoff im Verlauf der Reifeprozesse des Holzes entrissen wird, in Frage zu kommen. Damit ist man aber nicht mehr berechtigt, diese Erscheinung als Krankheit zu bezeichnen.

9. Es wird vermutet, daß dieser akute Kalimangel in den Blättern einen Leerlauf des Assimilationsapparates bewirkt, der nun infolge photo-

oxydativer Zerstörung des Chlorophylls bei den Rebensorten, die dazu neigen, eine Nekrotisierung der Zellen zur Folge hat.

10. Da die Neigung zu derartiger Fleckenbildung, die ja nicht bei allen Rebensorten auftritt, offensichtlich vererbt wird, bleibt noch zu klären: Haben die sich unterschiedlich verhaltenden Sorten einen abweichenden Kaliumstoffwechsel in den alternden Blättern, oder besitzen die melanoseanfälligen Sorten eine größere Neigung zur Nekrosebildung?

Literaturverzeichnis

Babo, A. v. und Mach, E., 1924: Handbuch des Weinbaues und der Kellerwirtschaft. Berlin.

*Bald, J. G. und Samuel, G., 1931: Investigations on „spotted wilt" of tomatoes. Austral. Counc. Sci. Industr. Res. Bull. 54.

Bary, A. de, 1884: Vergleichende Morphologie und Physiologie der Pilze. Leipzig.

Behrens, J., 1899: Die Braunfleckigkeit der Rebenblätter und die *Plasmodiophora vitis*. Weinbau und Weinhandel, Nr. 33.

— —, 1905: Beobachtungen über Pflanzenkrankheiten und Schädlinge der Kulturpflanzen. C. Die sog. Melanose der Reben. Ber. landw. Versuchsanstalt Augustenburg. Karlsruhe, 50.

Berkeley, M. J., 1865: Notices of north american fungi. Grevillea Bd. III, Nr. 44, 9.

Bethge, H., 1942: Über Windbeschädigung an Blättern der Roßkastanie. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 59, 454—475.

Börner, C. und Schilder, F. A., 1934: Beiträge zur Züchtung reblaus- und mehltaufester Reben. Mitt. Biol. Reichsanst. H. 49, Berlin.

Böttcher, R. und Behrling, M., 1940: Licht, Transpiration, Salzaufnahme und Blattstruktur. Flora 134, 1.

Bonnet, A., 1937: La brunissure. Progrès agric. et vitic. 108, 325—327.

Boresch, K., 1938: Über die Blattrandkrankheit der Johannisbeere mit einem Ausblick auf die Entstehung von Mangelchlorosen. Gartenbauwiss. 12, 176—232.

— —, 1939: Weitere Untersuchungen der durch Chloride hervorgerufenen Blattrandkrankheit der Johannisbeere. Bodenkunde u. Pflanzenernährg., Berlin, 14, 230—247.

*Bouchard, A., 1881: L'anthracnose. Bull. Soc. agric. France.

*Branas, J., 1948: Recherches sur la dégénérescence infectieuse de la vigne. Bull. International du vin 205, 7—12.

Branas, M., 1930: La roussure des producteurs directs. Ann. Ecole nat. d'agric. Montp. 20, 72—85.

Branas, J., Bernon, G. et Levadoux, L., 1937: Note sur la transmission par le sol de la dégénérescence de la vigne. Revue de vitic.

— —, — —, 1946: Nouvelles observations sur la transmission du court-noué de la vigne. Progrès agric. et vitic.

Braun, H., 1938: Variationsstatistische Untersuchungen zur Frage der Vererbung von Krebs- und Schorfresistenz der Kartoffel. Z. Vererbungslehre 75, 55—105.

Caspary, R., 1869: Beschädigung der Roßkastanienblätter durch Reibung mittels Wind. Bot. Ztg. 27, 201—207.

*CAVARA, F., 1894: La brunissure de la vigne en Italie. Revue internationale de Vitic. et d'Oenol. Macon.

CORRENS, C., 1912: Sordago, eine nach den Mendelschen Gesetzen vererbte Blattkrankheit. Verh. Ges. dtsch. Naturf. u. Ärzte, 250—252.

— —, 1915: Über eine nach den Mendelschen Gesetzen vererbte Blattkrankheit (Sordago) bei *Mirabilis jalapa*. J. wiss. Bot. **56**, 575—616.

CUNNINGHAM, H. S., 1928: A study of the histologic changes induced in leaves by certain leaf-spotting fungi. Phytopath. Z. **18**, 717—751.

DEBRAY, F., 1894: Nouvelles observations sur la brunissure. Revue de vitic. 152—155 u. 221—226.

— —, 1895: La brunissure chez les végétaux et en particulier dans la vigne. Revue de vitic. T. 1, 562—65, 614—19; T. 2, 16—18, 34—39, 61—64, 83—88 u. 294—95.

— —, 1898: La maladie de la brunissure. Bull. Soc. Bot. France, 253.

DINGLER, H., 1902: Zum herbstlichen Blattfall. Forstwiss. Zbl., 195—204.

— —, 1905: Versuche und Gedanken zum herbstlichen Laubfall. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **23**, 463—475.

DUCOMET, V., 1900: Recherches sur la brunissure des végétaux. Ann. Montpellier **11**, 171—283.

*— —, 1904: Brunissure des végétaux et sa signification physiologique. Ass. Sci. Angers, **32**, 677.

FISCHER, H., 1948: Plasmolyseformen und Minersalzgehalt in alternden Blättern. I. Planta **35**, 513—527.

— —, 1949: Plasmolyseformen und Mineralsalzgehalt in alternden Blättern. II. Planta **37**, 244—292.

GÄRTEL, W., 1953: Wie wirkt sich Bormangel bei der Rebe aus? Rhein. Weinztg. H. 4, 64—67.

— —, 1953: Die Abbauerscheinungen der Rebe. Rhein. Weinztg.. H. 6, 110—113.

GASSNER, G. und GOEZE, G., 1934: Die Bedeutung des Kalium-Stickstoff-Verhältnisses im Boden für Assimilation, Chlorophyllgehalt und Transpiration junger Getreidepflanzen. Z. f. Pflanzenernährg. A, **36**, 61—85.

GÄUMANN, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. Basel.

GOETHE, A., SEUFFERHELD, C. und ZEISSIG, R., 1901: Einfluß der Melanose auf die Ausbildung des Holzes und der Augen. Ber. Geisenheim, 50—51.

GOFFART, H., 1951: Nematoden der Kulturpflanzen. Paul Parey, Berlin, 15 ff.

HACKBARTH, H. und SENGBUSCH, R. v., 1935: Die Vererbung des Nicotingehaltes von *Nicotiana tabacum*. Züchter **7**, 1—5.

HASSEBRAUK, K., 1939: Untersuchungen über den Einfluß einiger Außenfaktoren auf das Anfälligkeitsverhalten der Standardsorten gegenüber verschiedenen physiologischen Rassen des Weizenbraunrostes. Phytopath. Z. **12**, 233—320.

HERSCHLER, A., 1933: Analyse von Rebblättern zur Feststellung des Nährstoffbedürfnisses des Bodens und zur Erkennung von Ernährungsstörungen. Arb. Biol. Reichsanst. **20**, 633—666.

— —, 1936: Ernährungsstörungen an Reben durch Bodenverhältnisse mit besonderer Berücksichtigung von Kalimangelschäden. Ernährung d. Pflanze **32**, 197—204.

HUGLIN, P., 1952: Die infektiösen Abbaukrankheiten der Rebe. Mitt. Höh. Bundesanst. Klosterneuburg **2**, 91—97.

HUSFELD, B., 1932: Über die Züchtung plasmoparawiderstandsfähiger Reben. Gartenbauwiss. **7**, 15—92.

JÖHNSSEN, A., 1933: Über die Reisigkrankheit der Rebe. D. Dtsch. Weinbau **12**, Nr. 17—20.

Kausche, G. A., 1937: Über einige Anomalien in der Kartoffelblüte. Z. Pflzkrkht. **47**, 113—139.

Kordes, H., 1937: Nekrosen, frühzeitige Blattverfärbungen und Wachstumsstörungen an Reben infolge abnormer Bodenversäuerung. Wein und Rebe **19**, 138—146.

Kotte, W., 1930: Die infektiöse Melanose der Rebe. Weinbau u. Kellerw. **9**, 63—64.

Kroemer, K., 1908: Das staatl. Rebveredlungswesen in Preußen. Berlin, 88—89.

— —, 1918: Die Anfälligkeit der amerikanischen Reben für Krankheiten. Weinbau u. Kellerw. **30**, 150—157.

Küster, E., 1929: Pathologie der Pflanzenzelle. 1. Pathologie des Protoplasmas. Protoplasm. Monographie **3**, Berlin.

— —, 1951: Die Pflanzenzelle. Jena.

*Lagatu, H. und Maume, L., 1924: (Biochemische Studien der Chlorose einiger auf *Rupestris* gepfropfter Amerikanerreben) (französisch). C. r. de l'acad. Sci. **179**, 782.

Lindenbein, W., 1937: Anatomische Beiträge zur Degeneration und Nekrose bei Kulturpflanzen in ihrer Bedeutung für die Landwirtschaft. Angew. Bot. **19**, 314—366.

Maier, W., 1937: Bormangelerscheinungen an Rebensämlingen in Wasserkulturversuchen. Gartenbauwiss. **11**, 1—16.

— —, 1942: Was wissen wir heute von der Chlorose? Forschungsdienst **13**, 149—169.

Marsais, P., 1906: Melanose — *Cladosporium* — *Septosporium*. Revue de vitic. **26**, 621—623.

*Massee, G., 1895: On an Orchid-disease. Ann. Bot. **9**, 170.

*— —, 1895: The „Spot" disease of Orchids. Ann. Bot. **9**, 421 u. 533.

Menzel, R., 1941: Beitrag zur Kenntnis der an den Wurzeln von Weinreben vorkommenden Nematoden. Anzg. f. Schädlingskd. **17**, 117—120.

Meyer, A., 1918: Eiweißstoffwechsel und Vergilben der Laubblätter von *Tropaeolum majus*. Flora **111**, 85.

Meyer, G., 1943: Zellphysiologische und anatomische Untersuchungen über die Reaktion der Kartoffelknolle auf den Angriff der *Phytophthora infestans* bei Sorten verschiedener Resistenz. Arb. Biol. Reichsanst. **23**, 97—132.

Michael, G., 1935: Über die Beziehungen zwischen Chlorophyll- und Eiweißabbau im vergilbenden Laubblatt von *Tropaeolum*. Z. f. Bot. **29**, 385—425.

Molz, E., 1906: Über die Blattbräune und Laubröte der Reben. Weinbau u. Kellerwirtsch. **18**, 139—145.

— —, 1909: Über ein plötzliches Absterben zweier Stöcke von *Riparia* × *Rupestris* in der Rebenveredlungsanlage Geisenheim. Z. Pflzkrkht. **19**, 68—74.

Moritz, J. und Busse, W., 1894: Über das Auftreten von *Plasmodiophora vitis* im deutschen Weinbaugebiete. Z. Pflzkrkht. **4**, 257.

Mothes, K., 1931: Zur Kenntnis des N-Stoffwechsels höherer Pflanzen. Planta **12**, 687.

Müller, K., 1930: Weinbaulexikon. Berlin.

Müller, K. O., 1950: Affinity and reactivity of angiosperms to *Phytophthora infestans*. Nature **166**, 392—395.

— — und Börger, H., 1943: Experimentelle Untersuchungen über die *Phytophthora*-Resistenz der Kartoffel — zugleich ein Beitrag zum Problem der „erworbenen Resistenz" im Pflanzenreich. Arb. Biol. Reichsanst. **23**, 189—231.

MÜLLER-STOLL, W. R., 1939: Studien über Hitzebeschädigungen an Weintrauben. Z. Pflzkrkht. **49**, 577—589.

MUTH, F., 1928: Die Melanose der Amerikanerreben. Mitt. d. landw. Ges. **43**, 1063—1066.

NEGRUL, A. M., 1936: Genetische Grundlagen der Weinrebenzüchtung (russisch). Bull. Appl. Bot. Serie VIII, 6.

NOACK, K., 1922: Physiologische Untersuchungen an Flavonolen und Anthocyanen. Z. f. Bot. **14**, 1—74.

— —, 1925: Photochemische Wirkungen des Chlorophylls und ihre Bedeutung für die Kohlensäureassimilation. Z. f. Bot. **17**, 481—548.

— —, 1936: Chemie und Physiologie in ihrer Auswirkung auf den Pflanzenbau. Angew. Chemie **49**, 673—681.

OSTERWALDER, A., 1944: Eine wenig bekannte Bakterienkrankheit an Rebblättern. Schweiz. Z. f. Obst- u. Weinbau **53**, 282—284.

PAECH, K., 1940: Ursache und Verlauf des Alterns bei Pflanzen I. Z. f. Altersforschg. **2**, 183—205.

PANTANELLI, E., 1912/13: Beiträge zur Kenntnis der Roncetkrankheit oder Krautern der Rebe. Z. Pflzkrkht. **22/23**, 1.

*PETRI, L., 1929: Sulle cause dell'arricciamento della vite. Boll. R. Staz. Patol. Veget. **9**, 101—130.

— —, 1933: Besprechung einiger Rebenkrankheiten. Wein und Rebe **14**, 322.

PIRSON A., 1937: Ernährungs- und stoffwechselphysiologische Untersuchungen an Fontinalis und Chlorella. Z. f. Bot. **31**, 193—267.

— —, 1939: Über die Wirkung von Alkaliionen auf Wachstum und Stoffwechsel an *Chlorella*. Planta **29**, 231—261.

PLANCHON, I. E., 1882: Quelques notes sur l'anthracnose déformante. Vigne américaine, 207.

QUADT, F., 1953: Untersuchungen über erbliche Nekrosen und ihre Beziehungen zur Resistenz. Züchter **23**, 223—243.

RACIBORSKI, 1900: Über die Vorläuferspitze. Flora **87**, 1—25.

RATHAY, E., 1891: Der Black-rot. Die Weinlaube **23**, Nr. 26, 34, 36, 37, 41 u. 43.

RAVAZ, L.: 1903: La brunissure de la vigne. Ann. Montpellier, 144—156, 175—251 u. 286—329.

— —, 1904: Sur la brunissure de la vigne. Progrès agric. et vitic. **41**, 65 ff.

RICHARDS, F. J., 1934: On the use of simultaneous observations on successive leaves, for the study of physiological change in relations to leaf age. Ann. Bot. **48**, 497.

RIPPEL, A., 1921: Die Frage der Eiweißwanderung beim herbstlichen Vergilben der Laubblätter. Biol. Centralbl. **41**, 508.

RUDLOFF, C. F. und SCHMIDT, M., 1935: Der Erreger des Apfelschorfes *Venturia inaequalis* (Cooke) Aderh. Grundlagen und Möglichkeiten für seine Bekämpfung auf züchterischem Wege. Züchter **7**, 30—37, 65—74.

SACHS, J., 1862: Übersicht der Ergebnisse der neueren Untersuchungen über das Chlorophyll. Flora **45**, 129 u. 209.

*SAMUEL, G., BALD, I. G. and PITTMAN, H. A., 1930: Investigations on „spotted wilt" of tomatoes. Counc. Sci. Industr. Res. Bull. **44**.

SCHANDERL, H., 1930: Untersuchungen über die Photosynthese einiger Rebsorten unter natürlichen Verhältnissen. Wiss. Arch. f. Landw. A. **3**, 529 ff.

Schilder, F. A., 1946: Die Zahl der Staubfäden der Weinrebe. Züchter **17/18**, 374—377.

Schmalfuss, K., 1936: Das Kalium. Freising.

Schmidt, M., 1939: *Venturia inaequalis* (Cooke) Aderh. IX. Fünfjährige Freilandbeobachtungen über den Schorfbefall von Apfelsorten. Gartenbauwiss. **13**, 567—586.

Schmitthenner, F., 1908: Untersuchungen über die Melanose. Geisenheimer Ber., 203—207.

— —, 1911: Die amerikanischen Unterlagsreben des engeren Sortimentes für die preußischen Versuchsanlagen. Berlin.

Schneiders, E., 1934: Die Reisigkrankheit der Rebe (Rebenmüdigkeit). Diss. Bonn.

— —, 1936: Beobachtungen und Untersuchungen über die Reisigkrankheit der Rebe. Gartenbauwiss. **10**, 110—150.

— —, 1937: Über die Zellstäbe und ihre phytopathologische Bedeutung. Gartenbauwiss. **11**, 237—250.

Schussnig, B., 1943: Eine neue Viruskrankheit der Tomatenpflanzen. Forschungsdienst **16**, 62—84.

Seeliger, R., 1925: Vererbungs- und Kreuzungsversuche mit der Weinrebe. Z. Vererbungslehre **39**, 32—163.

— —, 1933: Der neue Weinbau. Berlin.

*Sidorin, M., 1930: Über das Gelbwerden der Blätter im Herbst (Studien zur Ökologie der Pflanzen) (russisch). Z. russk. bot. Obsc. **14**, 459—477.

Sorauer, P., 1903: Zur anatomischen Analyse der durch saure Gase beschädigten Pflanzen. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **21**, 526—535.

— —, 1904: Zur anatomischen Analyse rauchbeschädigter Pflanzen. Landw. Jb. **33**, 585—664.

Staehelin, M., 1927: Beiträge zur Kenntnis des einjährigen Rebholzes und dessen Reife. Landw. Jb. Schweiz. **41**, 335—386.

Stahl, E., 1893: Regenfall und Blattgestalt. Ann. Jard. Bot. Buitenzorg **11**, 98—179.

— —, 1907: Über das Vergilben des Laubes. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **25**, 530.

Stellwaag, F., 1948: Grundsätzliches zur Beurteilung der Abbaukrankheiten der Rebe, insbesondere der Reisigkrankheit. Weinbau — Wiss. Beihefte **2**, 115—130 u. 147—161

— —, 1949: Schädlingsbekämpfung im Weinbau. Grundlag. u. Fortschr. in Garten- u. Weinbau Heft 25, Stuttgart.

— —, 1952: Abbauerscheinungen in Schnittgärten. Dtsch. Weinbau **7**, 431—435.

Straib, W., 1935: Untersuchungen über erbliche Blattnekrosen des Weizens. Phytopath. Z. **8**, 541—587.

Strugger, S., 1949: Fluoreszenzmikroskopie und Mikrobiologie. Hannover.

Szirmai, J., 1938: Die „Dörrfleckenkrankheit" (Hitzeschaden) des Paprikas. Phytopath. Z. **11**, 1—13.

Thümen, F., 1881: Die Anthracnose der Reben und ihre erfolgreiche Bekämpfung. D. Weinlaube **13**, 397—399.

Vaugham, R. E., 1914: A method for the differential staining of fungus. Ann. Mo. Bot. Gard. **1**, 241—242.

Viala, P., 1893: Les maladies de la vigne. Montpellier — Paris 3 éd.

— — et Ravaz, L., 1886: Sur la mélanose, maladie de la vigne. C. r., Acad. d. Sci.

— —, — —, 1887: Mémoires sur la mélanose. Ann d. l'école nat. Montpellier, Tom. III, 5.

— — et Sauvageau, C., 1892: Sur la brunissure, maladie de la vigne causée par le *Plasmodiophora Vitis*. C. r., I, 1558—1560.

— —, — —, 1892: Sur la maladie de Californie, maladie de la vigne causée par le *Plasmodiophora californica*. C. r., II, 67—69.

— —, — —, 1892: La brunissure et la maladie de Californie, maladies de la vigne causée par les *Plasmodiophora Vitis* et *Plasmodiophora californica*. Ann. de l'école nat. Montpellier, 8—34.

Wilhelm, A. F., 1938: Die Ursache des vorzeitigen Laubsterbens bei Reben. D. Dtsch. Weinbau 17, 661—663.

— —, 1950: Bormangel — die Ursache schwerer Krankheitserscheinungen an Reben. D. Weinbau 5, 320—321.

— —, 1950: Zur Kenntnis von Kalimangelerscheinungen bei der Weinrebe *Vitis vinifera* L. Phytopath. Z. 17, 240—265.

— —, 1951: Bormangel bei Reben (Literaturübersicht). Weinbau, Wiss. Beihefte 5, 13—18.

— —, 1952: Bormangel bei der Weinrebe *Vitis vinifera* L. Phytopath. Z. 19, 129—159.

Zeissig, R. und Seufferheld, C., 1905: Das Auftreten der Melanose bei den Unterlagsreben. Ber. Geisenheim, 283.

Zschokke, A., 1931: Sonnenbrand-, Hitzetod- und Austrocknungsschäden an Reben. Gartenbauwiss. 4, 196—232.

Zweigelt, F., 1930: Die Roussure (das Rostflecken- und Dürrwerden an Blättern von Direktträgern). D. Weinland, 135—137.

* Arbeiten konnten nicht im Original eingesehen werden.

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,
Institut für landwirtschaftliche Virusforschung, Braunschweig

Beitrag zum Prämunitätsproblem. Studien am Tabakmosaik*)

Von

E. Köhler

Mit 2 Abbildungen

Die Erfahrung hat gelehrt, daß der zur Verwandtschaftsbestimmung bei pflanzenpathogenen Viren viel angewandte Prämunitäts-Test (Cross immunity-Test) nur mit großer Vorsicht zu handhaben ist. Es gibt eine Reihe von Fehlerquellen, die man kennen muß, will man sich nicht Fehlschlüssen aussetzen. Solche Vorsicht ist ebensosehr am Platz, wenn das Ergebnis positiv, als auch wenn es negativ ausfällt. Wenn wir unsere Kenntnis auf diesem Gebiet erweitern wollen, so ist es angezeigt, allen Einzelfällen von Durchbrechung der Prämunitätsregel auf den Grund zu gehen. Im folgenden berichte ich kurz über das Ergebnis diesbezüglicher Studien.

An Tabakpflanzen der Sorte White Burley, die man im Jugendstadium mit dem gewöhnlichen Tabakmosaik-Virus (TMV) infiziert hat, lassen die späteren, von der gestreckten Sproßachse entspringenden Blätter oft eine besonders klare Mosaikfleckung erkennen, d. h. man findet, daß bei ihnen die dunkelgrünen und hellgrünen Flecke meist scharf gegeneinander abgegrenzt sind zum Unterschied von den älteren Blättern, die vielfach eine mehr diffuse oder auch gar keine Fleckung zeigen. Wenn man nun das Paratabakmosaik-Virus (PTMV) (1), eine stärker abweichende Variante des TMV, auf solche Blätter — die allerdings noch nicht ausgewachsen sein dürfen — aufreibt, so entstehen die für dieses Virus charakteristischen nekrotischen Infektionsflecken ausschließlich auf den dunkelgrünen Bezirken, nie jedoch auf den hellgrünen. Die hellen Bezirke sind also abwehrfähig, sie zeigen das Verhalten, das man als cross immunity oder auch Prämunität bezeichnet, während die dunklen sich wie die gesunden White Burley-Blätter verhalten; diese lassen auf ihrer

*) Unveränderter Abdruck eines auf dem VII. Internat. Botaniker-Kongreß in Stockholm 1950 gehaltenen Vortrages. Im Kongreßbericht (Proceedings VII. Internat. Bot. Congr. p. 708—709) ist nur ein Auszug enthalten.

gesamten Fläche solche nekrotischen Infektionsherde entstehen. Warum sind die hellen Areale prämun und die dunklen nicht?

Nach den Vorstellungen, die man sich von dem Mechanismus der Prämunität machen kann, ist zu erwarten, daß diejenigen Teile, an denen die Superinfektion möglich ist, kein Virus enthalten. Für die Richtigkeit dieser Vermutung sprechen die folgenden Befunde. Preßsäfte aus hellen und dunklen Teilen (ohne Nerven) wurden auf ihren Virusgehalt vergleichend untersucht. Es ergab sich, daß die dunklen Teile bedeutend weniger Virus enthalten als

Abb. 1. Tabakblatt („White Burley") von TM-kranker Pflanze. Nach zusätzlicher Infektion mit dem PTM-Virus treten die Einzelherde als schwarze Flecke ausschließlich auf den dunkelgrünen Arealen auf. Mit PTM superinfiziert am 25. April, photographiert am 2. Mai

Abb. 2. Wie bei Abb. 1, jedoch späteres Stadium. Da sich um die vergrößerten schwarzen Infektionsherde zum Teil helle Höfe gebildet haben, sind die vormaligen Grenzen der dunkelgrünen Areale streckenweise nicht mehr erkennbar. Auch ist die kreisförmige Ausbildung der Herde vielfach gestört, da ihre Ausbreitung an den Grenzen der dunkelgrünen Areale haltmacht

die hellen; das Verhältnis war hell zu dunkel = 100 : 39,2*). Dieser Befund ergab sich an Blättern, die noch nicht ausgewachsen waren und deren dunkle Teile noch die eigentümlichen krankhaften Aufwölbungen zeigten. Danach schien es, als ob das TM-Virus im Einströmen in die dunklen, vorher virusfreien Teile begriffen wäre. In der gleichen Weise wurden auch ausgewachsene Blätter untersucht, bei denen die Aufbeulungen verschwunden waren, in der Annahme, daß der Virusgehalt in den dunklen Teilen nun zugenommen hätte. Dies war aber nicht der Fall, das Verhältnis hell : dunkel war = 10 : 38,3, war also konstant geblieben. Man kann daraus m. E. folgern, daß die dunklen Partien zu einem großen Teil virusfreie Gewebeteile enthalten und daß ein Einströmen des Virus in diese Teile deshalb nicht erfolgen kann, weil schon in einem frühen Stadium eine Blockierung, ein Unwegsamwerden der zu ihnen führenden Plasmaverbindungen zustande kommt. Diesem Freisein von Virus ist die Erscheinung zuzuschreiben, daß sie der Prämunität ermangeln, daß die Superinfektion bei ihnen möglich ist. Unsere Ermittlungen bezüglich des Virusgehalts werden noch durch mikroskopische Befunde gestützt: Die Haare der hellen Areale der Blattober- und -unterseiten enthalten reichlich Viruskristalle, und zwar fast regelmäßig in jeder Zelle; sie fehlen fast ebenso regelmäßig in den Haarzellen der dunklen Teile, gleich ob jüngere oder ältere Blätter untersucht wurden. Es ergibt sich also die wahrscheinliche Folgerung: die Infektionen mit PTMV sind auf den dunklen Bezirken deshalb möglich, weil dort in der Epidermis und vermutlich auch im Assimilationsgewebe kein Virus enthalten ist. Das Virus scheint hier auf das Schwammparenchym und das fein verästelte Leitparenchym lokalisiert zu sein; dieses Virus kann die Entstehung von Infektionen in den virusfreien Teilen nicht verhindern.

Bemerkenswert ist, daß die nekrotischen Infektionsherde auch auf ganz kleinen, isoliert stehenden dunklen Flecken erscheinen können. Die Prämunisierung ist also bei den jungen Blättern streng auf die hellen, an Virus reichen Areale lokalisiert und die Möglichkeit einer immunisierenden Fernwirkung, etwa durch Einströmen eines inaktivierenden Stoffes aus den hellen in die dunklen Teile, bei ihnen auszuschließen. Auch bei Infektionsversuchen mit der Impfnadel lassen sich übrigens PTM-Infektionen nur in den dunklen Partien hervorrufen, und auch wenn man Blattunterseiten mit dem Virus einreibt, entstehen Infektionen, wenn auch spärlicher, nur auf den dunklen Partien.

Die Durchbrechung der Prämunität ist in dem geschilderten Fall offenbar die Folge einer dauernd unvollständigen Virusdurchdringung des Blattes. Wir können ein zweites Beispiel anführen, das einen analogen Fall darstellen dürfte.

*) Nachtrag bei der Drucklegung: Die Werte sind mit dem Einzelherdtest der nur schwach verdünnten Säfte an *Nicotiana glutinosa*-Blättern gewonnen; in Wirklichkeit wird aus den bekannten Gründen der Virusgehalt der dunklen Teile weit niedriger anzunehmen sein. Schon früher hatte übrigens J. Grainger (Ann. Appl. Biol. 20, 236—257 (1933) bei der Tabaksorte Connecticut Havanna Nr. 132 an stärker verdünnten Säften die Feststellung gemacht, daß der Virusgehalt der dunklen Teile nur $^1/_{10}$ desjenigen der hellen Teile beträgt. Dies dürfte der Wirklichkeit näher kommen.

Wenn man Blätter von *Datura stramonium*-Pflanzen, die mit einem schwachen Stamm des Kartoffel-X-Virus infiziert sind und die das Symptom des frühen „Veinbanding" erkennen lassen, mit einem nekrotisierenden Stamm des X-Virus zusätzlich einreibt, so bilden sich auf dem vorhandenen dunkelgrünen Veinbanding-Muster und auf dessen äußersten Verästelungen nekrotische Infektionsflecken in ähnlicher Weise wie bei unserem ersten Beispiel. Im Ultraviolettlicht zeigt die Umgebung dieser Infektionsherde blaue Fluoreszenz, was auf die verstärkte Bildung von Scopoletin (2) hindeutet. Offenbar liegt auch hier ein Fall von dauernd unvollständiger Virusdurchdringung vor. Freilich läßt sich diese Erscheinung nicht ganz leicht reproduzieren. Das zur Superinfektion geeignete Veinbanding-Muster ist nur an Blättern einer bestimmten Entwicklungsstufe vorhanden, auf seine Bildung sind die Außenfaktoren von Einfluß; auch scheinen nicht alle X-Stämme das geeignete Muster, das man als primäres Veinbanding bezeichnen könnte, zu produzieren. Als besonders geeignet erwies sich in unseren Versuchen ein aus der rotschaligen Variante der Sorte „Erstling" (vegetative Mutation von „Duke of York") isolierter milder Stamm RE 5. In dieselbe Kategorie gehören offenbar auch die Superinfektionen, die kürzlich MATTHEWS (3) bei Beimpfung von Daturablättern mit einem nekrotisierenden X-Stamm erhielt. Auch an seiner Abbildung ist das Veinbanding-Muster, wenn auch undeutlich, zu erkennen.

Unsere Vorstellung, daß Zellen dauernd virusfrei bleiben können, wird übrigens auch durch die elektronenoptischen Untersuchungen, die BLACK, MORGAN und WYCKOFF (4) an Blättern von TM-kranken Tabakpflanzen vorgenommen haben, gestützt. Sie fanden in ihren Schnitten neben Zellen, die starke Virusanhäufungen zeigten, auch solche, die augenscheinlich virusfrei waren.

Ich möchte z u s a m m e n f a s s e n d den Schluß ziehen, daß für das Zustandekommen oder Versagen der Prämunität nicht so sehr die Gesamtkonzentration maßgebend ist, die das erste Virus im Blatt erreicht, als vielmehr die Art seiner Verteilung im Blatt. Auch solche Virusstämme, die nur eine niedrige Gesamtkonzentration im Blatt erreichen, bewirken Abwehrfähigkeit, wenn sie die Epidermis vollständig durchdringen, und andererseits ist auch eine hohe Gesamtkonzentration nicht allein entscheidend, wenn virus f r e i e Partien in der Epidermis und darunter vorhanden sind. Diese Auffassung ist mit der von meiner Mitarbeiterin HAUSCHILD und mir (5) aufgestellten Miniumtheorie wohl vereinbar. Diese Theorie besagt, daß sich ein superinfiziertes Virus nur in solchen Zellen vermehren kann, in denen der im Minimum vorhandene Virusbaustein durch das erste Virus noch nicht aufgebraucht ist. Eine endgültige Aufklärung des Mechanismus der Prämunität dürften histologische Untersuchungen bringen, insbesondere solche nach dem Muster der zitierten Arbeit von BLACK, MORGAN und WYCKOFF unter Verwendung des Elektronenmikroskops.

Literaturverzeichnis

1. Köhler, E. u. Pánjan, M., 1943: Das Paramosaikvirus der Tabakpflanze. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **61**, 175—180.
2. Best, R. J., 1948: Studies on a fluorescent substance present in plants. Part 3: the distribution of scopoletin in Tobacco plants and some hypotheses on its part in metabolism. Austr. J. exp. Biol. med. Sci. **26**, 223—230.
3. Matthews, R. E. F., 1949: Studies on potato virus X. II. Criteria of relationships between strains. Ann. Appl. Biol. **36**, 460—474.
4. Black, L. M., Morgan, C. u. Wyckoff, R. W. G., 1950: Visualization of tobacco mosaic virus within infected cells. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. **73**, 119—122 (auch Brooklyn Bot. Garden, Contrib. Nr. 111).
5. Köhler, E. u. Hauschild, I., 1947: Betrachtungen und Versuche zum Problem der „erworbenen Immunität" gegen Virusinfektionen bei Pflanzen. Züchter **17/18**, 97—105.

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,
Institut für landwirtschaftliche Virusforschung, Braunschweig

Weitere Beiträge zur Kenntnis des Y-Virus der Kartoffel

Von

E. Köhler

Mit 2 Abbildungen

1. Übertragungsversuche zu Kartoffeln

Daß das auf natürlichem Wege durch Insektenübertragung in die Kartoffelpflanze gelangte Y-Virus leicht in die Knollen vordringt und danach auf die Tochterpflanzen übergeht, ist bekannt. Dagegen stößt dieser Übergang offenbar auf größere Schwierigkeiten, wenn die Infektion durch Blatteinreibung vorgenommen wird. Diese Erfahrung ist alt; ich machte sie schon vor längerer Zeit (1934) bei Gewächshausversuchen mit den Sorten Erdgold und Wohltmann. Damals wurden je drei junge Pflanzen der beiden Sorten gleichzeitig durch Blatteinreibung beimpft und von jeder Pflanze wurden drei Knollen nachgebaut. Bei Wohltmann fand sich das Virus immerhin in sechs, bei Erdgold hingegen in keiner von den neun Tochterpflanzen wieder. Bei diesen Versuchen war zum Einreiben noch kein Karborundpuder verwendet worden. Es sollte daher in neuen Versuchen geprüft werden, ob sich der Infektionserfolg durch Anwendung von Karborundpuder steigern läßt, und zwar vielleicht auch bei Sorten, die sich wie „Aquila" durch eine erhöhte Infektionsresistenz gegen dieses Virus auszeichnen. Eine solche Steigerung trat nicht ein, jedoch hatten die Versuche ein anderes bemerkenswertes Ergebnis, das der Bestätigung auf breiterer Basis wert wäre.

Erster Versuch

Sieben noch nicht voll entwickelte, gesunde Pflanzen der Sorte Aquila einer Feldparzelle (Pflanzdatum 6. Mai) wurden am 10. Juli wie folgt be-

handelt: An je zwei Stengeln wurden zwei noch nicht voll ausgewachsene Blätter mittlerer Höhe mit dem Y-Stamm Go unter Verwendung von Karborundpuder eingerieben. Der mit Wasser 1 : 1 verdünnte Impfsaft stammte aus Blättern des White Burley-Tabaks. Die nicht beimpften Sprosse der Stauden wurden über dem Boden abgeschnitten.

Auf den eingeriebenen Blättern traten im weiteren Verlauf früher oder später starke Strichelsymptome auf, die sich bis zum 1. August durchweg kräftig ausprägten; eine Ausbreitung der Symptome auf andere Pflanzenteile wurde jedoch nicht beobachtet. Am 18. September wurden die behandelten Pflanzen geerntet, desgleichen zur Kontrolle sieben nichtbehandelte, augenscheinlich gesunde Pflanzen.

Im April des folgenden Jahres wurden Keimstücke der geernteten Knollen im Gewächshaus in kleinen Töpfen zur Augenstecklingsprobe angesetzt. Sämtliche Augenstecklinge aus Knollen der sieben Kontrollpflanzen, insgesamt 90 Knollen, erwiesen sich als nicht infiziert, desgleichen die Augenstecklinge aus 69 Ernteknollen von sechs der behandelten Pflanzen. Nur bei einer von den behandelten Pflanzen war das Y-Virus in die Knollen vorgedrungen, und zwar waren von ihren zwölf Tochterpflanzen fünf gesund, vier zeigten die Symptome der Blattrollkrankheit allein und drei außer der Blattrollinfektion noch die für die Y-Infektion kennzeichnenden Strichelsymptome in unterschiedlicher Stärke; die Mutterpflanze mußte sich also auf dem Feld eine Neuinfektion mit Blattroll zugezogen haben, die ebenso wie die Y-Infektion nicht alle Knollen erreichte. Es ist bemerkenswert, daß das Y-Virus nur bei dieser einen Pflanze in die Knollen vordrang, und zwar nur in solche Knollen, die gleichzeitig das Blattrollvirus enthielten.

Zweiter Versuch

Im nächsten Jahre wurde der Versuch mit je neun gesunden Stauden der Sorten Aquila, Johanna, Heida, Voran und Ostbote wiederholt. Das Auspflanzen der Knollen wurde am 25. April, die Impfung am 23. Juni vorgenommen. Im darauffolgenden Frühjahr wurde ein Teil der Ernteknollen zur Stecklingsprobe angesetzt mit folgendem Ergebnis. Y-kranke Knollen waren vorhanden unter (. . .) geprüften Knollen bei:

Aquila (12)	eine, diese gleichzeitig mit Blattroll,
Johanna (10)	keine,
Heida (14)	drei, diese gleichzeitig mit Blattroll,
Voran (18)	eine, diese anscheinend ohne Blattroll,
Ostbote (14)	keine.

Auffällig ist wieder die geringe Anzahl Y-infizierter Knollen (im ganzen fünf von 68). Von ihnen wiesen bemerkenswerterweise vier gleichzeitig Infektionen mit Blattroll auf. Sodann ist hervorzuheben, daß sogar die für Y recht

anfällige „Voran" nur eine einzige Y-infizierte Knolle aufwies. Dies läßt vermuten, daß auch das Y-Virus der für die Kartoffel nachgewiesenen „Altersresistenz" unterworfen ist, die auch gegenüber Blattroll- und X-Infektionen festgestellt wurde (BERCKS, BEEMSTER, DIERCKS). Diese Altersresistenz ist also wahrscheinlich keine für die eine oder andere Virusinfektion spezifische Erscheinung, sondern sie beruht vermutlich darauf, daß der Transportmechanismus in der älteren Kartoffelpflanze für die verschiedenen Viren gleichsinnig einer Hemmung unterliegt, deren Natur noch nicht erkannt ist.

Tabelle 1

Erhitzungsversuch (10 Min.) vom 27. Juni 1953 mit Säften aus Blättern infizierter Pflanzen des White Burley-Tabaks. Testpflanze: *Solanum demissum*-Bastard A6.

	nicht erhitzt	56° C	58° C	60° C	62° C
	Anzahl Einzelherde an je fünf Blattfiedern				
1. Stamm Go 16	277	13	3	1	0
	217	13	3	1	0
	199	9	2	1	0
	198	6	1	0	0
	157	3	0	0	0
Mittelwerte	209,6	8,8	1,8	0,6	0,0
2. Stamm Ca	323	2	0		
	246	1	0		
	204	0	0		
	193	0	0		
	167	0	0		
Mittelwerte	226,6	0,6	0,0		

Erhitzungsversuch vom 14. März 1953 mit den Stämmen GA und DJ; Säfte von White Burley-Tabak

Anzahl Einzelherde an je sechs Blattfiedern				
1. Stamm GA	17	13	2	0
	15	8	1	0
	14	5	0	0
	8	2	0	0
	6	2	0	0
	4	1	0	0
Mittelwerte	10,0	5,2	0,5	0,0
2. Stamm DJ	15	2	1	0
	8	1	0	0
	7	1	0	0
	5	0	0	0
	2	0	0	0
	2	0	0	0
Mittelwerte	6,5	0,7	0,2	0,0

Die Ableitung des Y-Virus aus den eingeriebenen Blättern in die Knollen war trotz reichlicher Anfangsinfektion durchweg stark gehemmt. Diese Hemmung war bei zusätzlicher, spontan erfolgter Blattrollinfektion abgeschwächt oder aufgehoben. Dieser Befund scheint auf das Bestehen eines Synergismus bei den beiden Virusarten hinzudeuten.

2. Grenztemperatur der Inaktivierung

An Versuchen zur Bestimmung der Inaktivierungstemperatur des Y-Virus hat es nicht gefehlt. Wir fanden in der Literatur folgende Angaben (in ° C): Koch u. Johnson (1935) etwa 58 °; K. M. Smith (1937) 52 °; Folsom u. Bonde (1937) 60 bis 65 °; Dykstra (1939) etwa 57 °; Köhler (1940) etwa 58 °; Darby, Larson u. Walker (1951) 56 bis 62 ° bei 18 Isolierungen. Daraus geht hervor, daß die sehr niedrig lautende Angabe von Smith von keinem Untersucher bestätigt wurde. Es schien uns angezeigt, die vorliegenden Angaben an einer besonders empfindlichen Testpflanze, als welche sich unser *Solanum demissum*-Bastard A 6 erwiesen hatte (Köhler 1953), nachzuprüfen. Das Ergebnis ist aus vorstehender Tabelle 1 ersichtlich. Danach wurde die Inaktivierungsgrenze für die Stämme GA, Go und DJ übereinstimmend bei etwa 60 °, für Stamm Ca bei etwa 56 ° ermittelt.

Abb. 1. Junge Tabakpflanze (Samsun), mit dem hochvirulenten Stamm Al des Y-Virus infiziert

3. Über einen für den Tabak hochvirulenten Stamm des Y-Virus

Im Sommer 1952 wurden von einem Tabakfeld aus Ahlhorn (Oldenburg) unter neuartigen Erscheinungen erkrankte Pflanzen eingesandt. Die Untersuchung ergab das Vorliegen einer ungewöhnlich symptomstarken Variante des Kartoffel-Y-Virus. Mit dem isolierten Virus („Al") wurden im Gewächshaus Übertragungen auf junge Pflanzen des Samsuntabaks durch Einreibung der unteren Blätter vorgenommen. Als Folgesymptom erschien auf den jüngeren Blättern zunächst ein den interkostalen Nerven folgendes weißlich nekrotisches Netzmuster, wobei sich die Blätter nach unten einrollten oder einkrümmten (Abb. 1); auf den Mittelrippen zeigten sich kräftige Längsnekrosen. An den später entfalteten Blättern gingen die Nekrosen zurück und an ihre Stelle trat ein verstärktes „Perlmuster". Auch die Blätter des White Burley-Tabaks reagierten zunächst mit Nekrosebildung, hauptsächlich auf der Mittelrippe. Das Krankheitsbild am Tabak erinnerte lebhaft an gewisse Mischinfektionen, an denen das X-Virus beteiligt ist, und könnte deshalb zu Verwechslungen Anlaß geben.

Nach Verimpfung auf Blätter des Kartoffelstammes A 6 erschienen die für die meisten Y-Stämme kennzeichnenden schwarzen nekrotischen Ringe in großer Zahl (Abb. 2). Die Inaktivierungstemperatur mit A 6 als Testpflanze wurde um 60 ° C (10 Min.) ermittelt, wie aus nachstehender Tabelle 2 ersichtlich ist.

Tabelle 2

Anzahl Einzelherde auf je fünf Blattfiedern des *Solanum demissum*-Bastards A 6

55° C	58° C	61° C
11	3	1
7	1	0
4	1	0
4	1	0
4	0	0

Abb. 2. Blatt des *Solanum demissum*-Bastards A 6 mit den Infektionsherden des Y-Stammes Al

Der Stamm zeigt also die gleiche Hitzeempfindlichkeit wie die oben genannten „Normalstämme". Dem Symptombild nach gleicht die Krankheit auffällig der von NOBREGA und SILBERSCHMIDT (1944) in Südamerika beschriebenen „Necrose das Nervuras" und dem gleichfalls aus Südamerika

stammenden, von Bawden und Kassanis (1951) beschriebenen „Tobacco veinal necrosis". Nach den Angaben der letztgenannten Untersucher ist ihr Virus für Kartoffeln weniger virulent als für den Tabak. Man darf wohl als wahrscheinlich annehmen, daß unser Stamm Al mit dem südamerikanischen Virus identisch ist und aus Südamerika eingeschleppt wurde.

4. Zusammenfassung

1. Wurden Kartoffelstauden auf dem Felde durch Einreiben der Blätter unter Verwendung von Karborundpuder mit dem Y-Virus infiziert, so erwiesen sich die aus Tochterknollen dieser Pflanzen herangezogenen Augenstecklinge nur zu einem sehr geringen Anteil mit dem Virus infiziert, obwohl angenommen werden muß, daß sich dieses in den eingeriebenen Blättern ausgiebig vermehrt hatte. Offenbar war der Virusabtransport nach den Knollen stark gehemmt. Zusätzlicher spontaner Befall mit Blattvollvirus scheint den Übergang des Y-Virus in die Knollen bei verschiedenen Sorten zu begünstigen.

2. Die Ermittlung der Inaktivierungstemperatur (10 Min.) ergab unter Verwendung des hochempfindlichen Kartoffelstammes A6 als Testpflanze Übereinstimmung bei den Stämmen GA, Go, DJ und Al; die Grenze liegt bei diesen um 60 ° C. Abweichend davon wurde sie für den Stamm Ca bei 56 ° bestimmt.

3. Es wird über das für Deutschland neue Auftreten eines für den Tabak besonders virulenten Stammes des Y-Virus berichtet, der mit einem in Südamerika vorkommenden Virus identisch sein dürfte.

Literaturverzeichnis

1. Bawden, F. C. u. Kassanis, B., 1951: Serologically related strains of potato virus Y that are not mutually antagonostic in plants. Ann. Appl. Biol. **38**, 402—410.

2. Beemster, A. B. R., 1954: Virustransport innerhalb der Kartoffelpflanze. 29. Pflanzenschutztagung, Heidelberg 1953. Mitt. Biol. Bundesanstalt, Heft 80, 136—140, Berlin.

3. Bercks, R., 1952: Fortgeführte Freilanduntersuchungen über die Altersresistenz von zwei Kartoffelsorten gegen das X-Virus. Züchter **22**, 85—91.

4. Darby, J. F., Larson, R. H. u. Walker, J. C., 1951: Variation in virulence and properties of potato virus Y strains. Wisconsin Res. Bull. **177**.

5. Diercks, R., 1953: Der Einfluß der Mineralsalzernährung auf Wanderungs- und Ausbreitungs-Geschwindigkeit des X-Virus in der Kartoffelpflanze. Z. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz (München) **4**, 252—288.

6. Dykstra, T. P., 1939: A study of viruses infecting European and American varieties of the potato, *Solanum tuberosum*. Phytopathology **29**, 40—67.

7. Folsom, D. u. Bonde, R., 1937: Some properties of potato rugose mosaic and its components. J. Agr. Res. **55**, 765—783.

8. KOCH, K. u. JOHNSON, J., 1935: A comparison of certain foreign and American potato viruses. Ann. Appl. Biol. **22**, 37—54.

9. KÖHLER, E., 1934: Untersuchungen über die Viruskrankheiten der Kartoffel. III. Weitere Versuche mit Viren aus der Mosaikgruppe. Phytopath. Z. **7**, 1—30.

10. — —, 1940: Weitere Studien über die Vira der Y-Gruppe der Kartoffel. Phytopath. Z. **12**, 480—489.

11. — —, 1953: Der *Solanum demissum*-Bastard „A 6" als Testpflanze verschiedener Mosaikviren. Züchter **23**, 173—176.

12. NOBREGA, N. R. u. SILBERSCHMIDT, K., 1944: On a suspected variant of the potato virus „Y" (Solanum Virus 2, Orton) which causes necrosis on tobacco plants (portugies.). Arquivos Inst. Biol., S. Paulo **15**, 307—330.

13. SMITH, K. M., 1937: A Textbook of Plant Virus Diseares, London.

Istituto di Patologia Vegetale dell'Università di Milano
Centro Studi Applicazione Radioisotopi
Direttore: Prof. Elio Baldacci

Il Metabolismo del fosforo nei tessuti verdi lesionati studiato con P^{32}

Di

E. Baldacci, E. Betto, A. Amici

Nelle ricerche sull'assorbimento del fosforo da parte di una pianta virusata in comparazione ad una pianta sana, mediante l'impiego dell'isotopo radioattivo P^{32}, abbiamo osservato che il processo é notevolmente influenzato dallo strofinamento effettuato sulle foglie con polvere di carborundum a cui solitamente si ricorre per favorire l'inoculazione. Abbiamo perciò ritenuto opportuno indagare più profondamente questo effetto al fine di determinarne la portata e le relative variazioni in funzione del tempo.

A tale scopo abbiamo impostato una serie di prove condotte su piantine di *Nicotiana tabacum* (var. *Samsun*) allevate in coltura idroponica e alle quali, ad un determinato momento, é stato somministrato del fosforo radioattivo P^{32}.

Nella prima serie di prove la somministrazione dell'elemento radioattivo é stata effettuata prima dello strofinamento con la polvere di carborundum e più precisamente: in un primo gruppo di piante, 10 giorni prima, in un secondo gruppo, 6 giorni prima, in un terzo gruppo, 3 giorni prima; inoltre in un quarto gruppo il P^{32} é stato somministrato al momento dello strofinamento. Di ogni gruppo (di 6 piante ciascuno) é stata determinata la radioattività 3 giorni dopo lo strofinamento (su due piante), 6 giorni dopo (su altre due piante) ed infine 10 giorni dopo (sulle ultime due piante).

Nella seconda serie di prove la somministrazione del P^{32} é stata effettuata dopo lo strofinamento: su due piante 2 giorni dopo con misurazione della radioattività al 6° giorno dallo strofinamento, e su altre due piante 8 giorni dopo con misurazione della radioattività al 12° giorno dallo strofinamento.

In tutte le prove ogni pianta é mantenuta nella soluzione nutritiva radioattiva per 4 giorni.

Lo strofinamento é stato effettuato soltanto su una delle due metà in cui la foglia é divisa dalla sua nervatura principale; solo in tal modo i risultati sperimentali relativi alla parte „strofinata" e „non strofinata" possono essere confrontabili. Difatti nostre precedenti ricerche condotte sempre col P^{32} (BALDACCI e coll., 1953)[1]) e altri vari dati della letteratura sulla modalità di assorbimento del fosforo radioattivo, indicano che l'elemento in questione si distribuisce variamente nelle diverse foglie di una stessa pianta; inoltre abbiamo anche constatato che il grado di assorbimento del fosforo può variare sensibilmente da pianta a pianta. E' evidente che in queste condizioni é difficile confrontare foglie „strofinate" e no fra loro. Per di più confrontando le due metà di una stessa foglia si possono trascurare altri fattori che possono influire sui dati in confronto, come lo spessore e lo stato fisiologico delle foglie, il decadimento dell'elemento radioattivo, ecc.

Lo strofinamento é stato effettuato su tre foglie di ogni pianta cospargendo la polvere di carborundum su mezza foglia e quindi, tenendo la pagina inferiore contro una piastra metallica, si é delicatamente strofinato la pagina superiore con l'indice, opportunamente protetto per evitare di contaminare la mano di sostanza radioattiva.

Le piante in esperimento vennero allevate nel seguente modo: le semine sono state effettuate su terreno in vasi e il trapianto in soluzione nutritiva fu eseguito quando le piantine avevano un'altezza di circa 15 cm. La composizione della soluzione nutritiva era la seguente:

Sali	gr./litro
Nitrato di calcio	1,00
Fosfato monopotassico	0,25
Solfato di magnesio	0,25
Nitrato di potassio	0,25

Sono stati anche somministrati i microelementi aggiungendo per ogni litro di soluzione nutritiva 1 cc. di una soluzione contenente gr. 1,750/litro di citrato ferrico ammoniacale, e 0,5 cc. di una seconda soluzione contenente:

Sali	gr./litro
Solfato di manganese	1,750
Solfato di zinco	1,750
Acido borico	1,750
Solfato di rame	0,350

I vasi di coltura erano di vetro scuro e di 500 cc. di capacità; per ogni vaso fu posta una sola pianta dopo averne lavato delicatamente le radici per liberarle dalle particelle di terra.

[1]) BALDACCI e coll. — Boll. Soc. It. Biologia sperimentale, 1953, **29**, 7.

La somministrazione del fosforo radioattivo é stata fatta dopo un periodo di allevamento in soluzione nutritiva di almeno 15 giorni. Al momento dell'aggiunta dell'elemento radioattivo la soluzione nutritiva era rinnovata ma la concentrazione del fosfato era ridotta a metà (0,125 gr./l.), al fine di favorire l'assorbimento delle piccole quantità di fosforo radioattivo presenti nella soluzione.

Il fosforo radioattivo é stato somministrato sotto forma di acido ortofosforico „carrier free", cioé completamente privo dell'elemento inattivo. In ogni vasetto furono aggiunti 30 μC (1 μC = $3{,}7 \times 10^4$ disintegrazioni per secondo) di $H_3P^{32}O_4$, che corrispondono a circa 3×10^{-7} mgr. di fosforo.

Le piante furono lasciate nella soluzione nutritiva radioattiva soltanto per 4 giorni e dopo tale periodo furono riportate in soluzione non radioattiva, e completa; non si effettuava nessun lavaggio dell'apparato radicale delle piante. Durante tutto il periodo di allevamento le piante sono state tenute ad una temperatura di $18^0 \pm 2^0$ con umidità relativa di 60 ± 5 e illuminate mediante luce artificiale con tubi fluorescenti disposti a circa 30 cm. sopra le piante; la durata giornaliera dell'illuminazione é stata di 12 ore, l'intensità di 160 Watts/mq. Al momento della determinazione della radioattività le foglie avevano una superficie di circa 25 cmq.

La determinazione della radioattività venne fatta con tubo Geiger-Müller (l'apparecchiatura relativa è stata gentilmente fornita dalla Soc. Italelettronica di Roma) e secondo il metodo già da noi applicato in altre ricerche (Baldacci e coll., 1953); mediante un affilato fora-tappi del diametro di 10 mm. sono stati tagliati dei dischi di foglia, che vennero poi posti, senza nessun particolare trattamento, nell'apposito „castello" porta-tubo G. M. per la misurazione della radioattività. Le misure vennero fatte per un periodo di tempo di 15—20 minuti; i valori così ottenuti vennero riportati al minuto e da essi fu sottratto il „fondo"; nessun altra correzione é stata effettuata dato che abbiamo sempre operato in condizioni tali che le misurazioni possono essere direttamente confrontabili tra di loro.

La determinazione della radioattività venne effettuata su tre foglie di ciascuna pianta e di ogni foglia vennero esaminati 6 dischetti: tre nella metà „strofinata" e tre nella metà „non strofinata".

Allo scopo di studiare l'andamento delle variazioni dell'assorbimento del fosforo nella parte „stofinata" rispetto alla parte „non strofinata", che si é assunta come termine di confronto, abbiamo calcolato, in ogni gruppo di piante il rapporto

$$R = \frac{\text{numero impulsi mezza foglia strofinata}}{\text{numero impulsi mezza foglia non strofinata}}$$

Pertanto, $R > 1$ indicherà che la mezza foglia „strofinata" ha assorbito di più di quella „non strofinata"; nel caso contrario sarà $R < 1$.

I valori ottenuti sono riportati nelle tabelle. In esse sono anche indicati, fra parentesi, i valori del rapporto fra il numero degli impulsi registrati nella metà destra e nella metà sinistra di foglie che non hanno subito nessun strofinamento; difatti nel corso delle prove si é anche potuto verificare se le due metà di una foglia si comportano allo stesso modo riguardo all'assorbimento del fosforo.

Tabella 1

Prima serie di prove: somministrazione del P^{32} prima e al momento dello strofinamento

Dalla somministrazione del P^{32} allo strofinamento passano giorni	Dallo strofinamento alla determinazione della radioattività passano giorni		
	3	6	10
10	1,37 (0,97)	1,11	1,30
6	1,65	1,50	1,36 (1,05)
3	1,94 (0,98)	1,47 (0,99)	1,45
0	2,43 (1,00)*)	2,76	2,55 (1,08)

*) Le piante sono state tenute nella soluzione radioattiva per 3 giorni, anziché 4.

Tabella 2

Seconda serie di prove: somministrazione del P^{32} dopo lo strofinamento

Dallo strofinamento alla somministrazione del P^{32} passano giorni	Dallo strofinamento alla determinazione della radioattività passano giorni	
	6	12
2	1,40 (1,00)	—
8	—	1,12 (0,97)

Dalla serie dei risultati ottenuti possiamo rilevare e dedurre quanto segue:

1. Le due metà di una foglia integra si comportano allo stesso modo nei confronti dell'assorbimento del fosforo; difatti i rapporti ottenuti sono costanti e molto prossimi a 1 (valori tra parentesi Tab. 1 e Tab. 2).
2. Nel caso della porzione di foglia „strofinata" il valore del rapporto é maggiore di 1; ciò vuol dire che la lesione provocata dallo strofinamento produce un maggior assorbimento di fosforo nella parte interessata rispetto a quella integra. Questo fatto é probabilmente dovuto ad una attivazione delle divisioni cellulari nel tessuto lesionato dallo strofinamento. Difatti:
3. Se consideriamo la prova in cui il radiofosforo é stato somministrato dopo lo strofinamento, ma appena prima della determinazione della

radioattività (Tab. 2), assieme alla prova (Tab. 1) in cui la somministrazione é stata fatta contemporaneamente allo strofinamento (con determinazione della radioattività al 3 ° giorno), osserviamo che i valori dei relativi rapporti diminuiscono aumentando il periodo di tempo intercorso fra lo strofinamento e la determinazione della radioattività; infatti al 3 °, 6 ° e 12 ° giorno i valori sono rispettivamente 2,43, 1,40 e 1,12. Evidentemente tale diminuzione può essere messa in relazione al fatto che col passare dei giorni l'attività del tessuto ritorna normale.

4. Considerando le prove in cui il radiofosforo é stato somministrato prima dello strofinamento (Tab. 1) risulta che i valori dei rapporti aumentano col diminuire dell'intervallo di tempo trascorso dalla somministrazione del P^{32} allo strofinamento. Questo significa, a nostro avviso, che nella riparazione delle ferite fogliari la richiesta di fosforo é soddisfatta in prevalenza da fosforo proveniente dal mezzo e non già presente nella pianta. Il fatto può essere messo in relazione alla modalità di migrazione e di fissazione del fosforo nella pianta. Infatti dobbiamo ritenere che nel caso di un breve periodo di tempo tra somministrazione e strofinamento il numero di ioni fosforici radioattivi liberi nella pianta é maggiore per cui la migrazione verso la parte che viene strofinata é più elevata di quando tale periodo di tempo é più lungo e la disponibilità quindi minore. Dalla Tab. 1 risulta anche che se consideriamo uno stesso intervallo di tempo fra somministrazione e strofinamento, i rapporti, col passare dei giorni dallo strofinamento alla determinazione della radioattività, non accennano a diminuire in modo notevole; solo si osservano variazioni inerenti alla tecnica di lavoro. Non si ha cioé quella diminuzione che é stata osservata nelle prove in cui il fosforo radioattivo era stato somministrato dopo lo strofinamento; ovviamente ciò vuol dire che quel fosforo che la foglia ha richiamato per riparare le sue perdite rimane nella foglia anche a riparazione avvenuta.

Riassunto

A piante di tabacco, allevate in coltura idroponica, è stato somministrato del fosforo radioattivo ad intervalli diversi di tempo prima e dopo l'effettuazione di lesioni fogliari provocate mediante strofinamento con polvere di carborundum. Le piante sono state mantenute nella soluzione radioattiva per 4 giorni e la determinazione della radioattività è stata effettuata 3, 6, 10 e 12 giorni dopo lo strofinamento. Si è osservato che le foglie lesionate assorbono più fosforo di quelle non lesionate e che nella riparazione delle ferite fogliari la richiesta di fosforo è soddisfatta in prevalenza con fosforo proveniente dal mezzo.

Zusammenfassung

An Tabakpflanzen, die in Nährlösung wuchsen, wurden durch Abreiben der einen Blatthälften mit Karborundpulver Verwundungen erzeugt. Vor oder nach der Verwundung wurde den Pflanzen radioaktiver Phosphor verabreicht. Die Pflanzen blieben jeweils vier Tage in der radioaktiven Nährlösung; die Aktivitätsbestimmung in den Blättern erfolgte 3, 6, 10 und 12 Tage nach der Verwundung.

Es zeigte sich, daß die verwundeten Blätter mehr Phosphor aufnehmen als die unbeschädigten. Während der Wundvernarbung wird der Phosphorbedarf hauptsächlich durch den aus der Nährlösung aufgenommenen Phosphor gedeckt.

Kurze Mitteilungen

Aus der Eidgenössischen Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau, Wädenswil
Direktor: Prof. Dr. F. Kobel

Beobachtungen über das Verhalten von *Podosphaera leucotricha* (Ellis et Everh.) Salm. in Apfelknospen

Vorläufige Mitteilung

Von

Lukas Stalder

Mit 5 Abbildungen

Die Tatsache, daß das Pilzmyzel des Erregers des echten Mehltaues der Apfelbäume, *Podosphaera leucotricha* (Ellis et Everh.) Salm., in den Knospen überwintert, ist bekannt und wird durch die Untersuchungsergebnisse zahlreicher Autoren bestätigt. (Laubert 1908, Tubeuf 1910, van Poeteren 1912, Foëx 1912, Stewart 1915, Höstermann 1920 bis 1921, Woodward 1927, Berwith 1936, Stoll 1941, Hochapfel 1951, Hervert 1954 und andere.) Die Untersuchungen von Woodward zeigen, daß der Pilz schon im Frühling in die jungen Knospen eindringt, kurz nachdem sie in den Blattachseln angelegt worden sind. Das Pilzmyzel, welches sich zwischen den inneren Knospenschuppen und den Blattanlagen befindet, treibt Haustorien in die Epidermiszellen, mit welchen es dem Parasiten möglich ist, den Winter zu überdauern und im nächsten Frühling, schon beim Aufbrechen der Knospen, neue Infektionen auszulösen.

Da die genaue Klärung der Lebensweise des Pilzes im Hinblick auf seine Bekämpfung von größter Bedeutung ist, wurden seit dem September des vergangenen Jahres periodisch kranke (spelzige) und angeblich gesunde Knospen der Sorten Stäfner Rosen und Landsberger Reinette, welche als mehltauanfällig bekannt sind, mikroskopisch untersucht. Es konnten dabei einige Beobachtungen gemacht werden, über welche bis jetzt in der einschlägigen Literatur noch nichts berichtet wurde. Sie sollen deshalb an dieser Stelle kurz beschrieben werden.

Von Seiten-, End- und Blütenknospen der erwähnten Apfelsorten wurden anfänglich Hand- und Mikrotomschnitte angefertigt und diese mit Baumwoll-

blau gefärbt. Später jedoch wurde mit folgender Schnellmethode gearbeitet, welche sich ausgezeichnet bewährte und sich für Serienuntersuchungen gut eignete: Bei den zu untersuchenden Knospen beseitigt man zuerst mit einer Lanzettnadel unter der Binokularlupe die äußeren Knospenschuppen. Anschließend löst man sorgfältig die inneren (grünen) Knospenschuppen und die Blattanlagen weg, legt sie auf einen Objektträger in einen Tropfen Lactophenol-Baumwollblau (Milchsäure 20 %, Phenol 20 %, Glycerin 40 %, Wasser 20 %, Baumwollblau etwa 1 ‰) und bedeckt sie mit einem Deckglas. Gilt das Interesse in erster Linie den Epidermiszellen und den sich darin befindenden Haustorien, so schabt man den Haarbelag, bevor man die Knospenschuppen weglöst, mit der Lanzettnadel weg; untersucht man hingegen speziell die Schuppenhaare, so erübrigt sich dieses Vorgehen. Anschließend erhitzt man das Präparat über der Gasflamme während zwei bis drei Minuten, ohne jedoch das Lactophenol zum Sieden zu bringen. Das Lactophenol hellt die Zellen weitgehend auf, während das Baumwollblau die Hyphen und Haustorien mäßig anfärbt. Das abgekühlte Präparat kann sofort mikroskopiert werden.

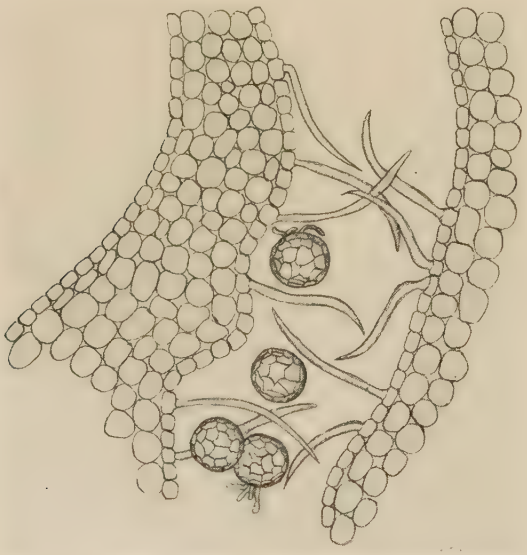


Abb. 1. Perithecien von *Podosphaera leucotricha* zwischen den inneren Knospenschuppen

Neben den Hyphen verschiedener nicht näher bestimmter Pilze, den Pyknidien von *Cicinnobolus cesatii* De By., den Haustorien und Hyphen von *Podosphaera leucotricha* konnten gelegentlich auch die Perithecien des Parasiten gefunden werden. Das Vorkommen der Perithecien war nicht etwa nur auf die äußeren Knospenschuppen beschränkt, sondern sie konnten auch im Knospeninnern, eingebettet zwischen den inneren Knospenschuppen, in der Nähe der Blattanlagen gefunden werden (Abb. 1).

Diese Perithecienbildung im Knospeninnern ist insofern interessant, als infolge der nassen und kalten Witterung des vergangenen Sommers die Hauptfruchtform des Parasiten auf den Trieben und außen an den Knospen nur sehr selten gefunden werden konnte. In den meisten der vorgefundenen Perithecien im Knospeninnern war ein normal ausgebildeter Ascus mit Ascosporen vorhanden. Eine große Bedeutung für die Verbreitung der Krankheit im Frühling haben sie aber vermutlich kaum, da von verschiedenen Autoren, wie TUBEUF, WOODWARD, BERWITH und STOLL, den Ascosporen jegliche Fähig-

keit, auszukeimen und Infektionen zu verursachen, abgesprochen wird. Da keine Keimversuche mit Ascosporen durchgeführt wurden, soll diese Frage offengelassen werden.

Die Untersuchungen von WOODWARD zeigen, daß das Mehltaumyzel nicht einfach zwischen den Knospenschuppen ruhend den Winter überdauert, sondern daß der Pilz mit Haustorien in die Epidermiszellen hineinwächst. Während der eigenen Untersuchungen konnten die Haustorien nicht nur in den Epidermiszellen der inneren Knospenschuppen und der Blattanlagen, sondern ebenso häufig in den Schuppen- und Blatthaaren gefunden werden (Abb. 2 u. 3). Die befallenen Haare unterscheiden sich in der Regel von den gesunden durch eine Reduktion der Wandverdickung und durch eine Bräu-

Abb. 2

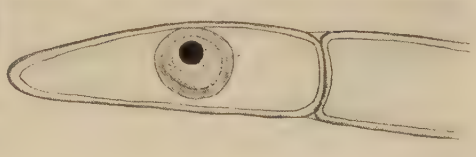


Abb. 3

Haustorien in Schuppenhaaren

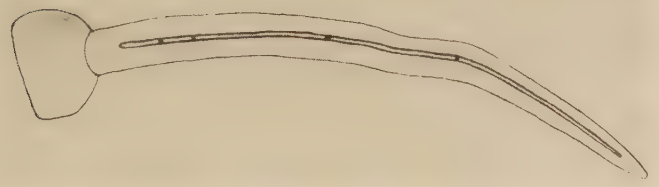


Abb. 4. Gesundes Schuppenhaar

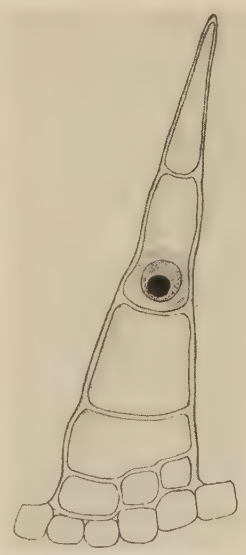


Abb. 5. Haustorium in einem Gurkenhaar

nung des Plasmas, welches sich häufig zu unregelmäßigen Klumpen zusammenballt. Diese Veränderungen der inneren Haarstruktur sind aber keine spezifischen Merkmale für Mehltaubefall. Sie treten auch dann auf, wenn andere Pilze mit ihren Hyphen in die Haare eingedrungen sind. Ebenfalls kann die Bildung von Querwänden, welche bei Haaren mit Haustorien häufig anzutreffen ist, nicht mit Bestimmtheit als eine Folge von induzierten Abwehrreaktionen betrachtet werden, da auch bei gesunden Haaren hier und da Querwände oder Anfänge zu deren Bildung festgestellt werden können.

In gleicher Weise wurden auch Gurkenblätter untersucht, welche vom echten Mehltau befallen waren. Auch hier konnten die Haustorien ohne große Schwierigkeiten in den Haaren von jungen, sich eben entfaltenden Blättchen gefunden werden (Abb. 5). Die Hyphen des Pilzes klettern von der infizierten

Epidermis her an den Haaren empor und treiben die Haustorien in deren Zellen hinein. Irgendwelche pathologische Veränderungen waren bei den befallenen Gurkenhaaren nicht zu beobachten.

Infektionen von Pflanzenhaaren können also nicht nur von *Podosphaera leucotricha,* sondern wahrscheinlich ganz allgemein durch *Erysiphaceen* verursacht werden, was durch weitere Untersuchungen noch zu klären ist.

Literaturverzeichnis

BERWITH, C. E., 1936: Apple powdery mildew. Phytopathology, **26**, 1071—1073.

FOËX, M. ET., 1912: Les modes d'hibernation des Erysiphacées dans la région de Montpellier. 1er Congrès international de pathologie comparée, Paris.

HERVERT, V., 1954: Neue Beiträge zur Kenntnis der Biologie des Apfelmehltaues (*Podosphaera leucotricha*) und die Möglichkeiten ihrer praktischen Ausnützung. Sborn. Ceskoslov. akad. usw., **27** A, 305—320.

HOCHAPFEL, H., 1951: Neues zur Bekämpfung des Apfelmehltaues. Bad. Obst- u. Gartenbauer, **4**, Nr. 3, 42.

HÖSTERMANN, 1920—21: Zur Frage der Überwinterung des Apfelmehltaues (*Podosphaera leucotricha*). Ber. höh. Gärtnerlehranstalt, Berlin-Dahlem, 97—98.

LAUBERT, R., 1908: Der echte Mehltau des Apfelbaumes, seine Kapselfrüchte und seine Bekämpfung. Deutsche landw. Presse, **35**, 628—629.

POETEREN, N. VAN, 1912: De overwintering en bestrijding van eenige meeldauwzwammen. Tijdschr. plantenziekten, **18**, 85—95.

STEWART, V. B., 1915: Some important leaf diseases of nursery stock. Corn. univ. agr. exper. stat, Nr. 358.

STOLL, K., 1941: Untersuchungen über den Apfelmehltau *Podosphaera leucotricha* (Ell. u. Ev.) Salm. Forschungsdienst, **11**, Nr. 1, 59—70.

TUBEUF, C. VON, 1910: Beobachtungen über die Überwinterungsart von Pflanzenparasiten. Z. f. Forst- u. Landwirtsch., **8**, 56—58.

WOODWARD, R. C., 1927: Studies on *Podosphaera leucotricha* (Ell. and Ev.). Salm. Trans. Brit. Myc. Soc., **12**, 173—204.

Aus der Biologischen Zentralanstalt der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin, Institut für Phytopathologie Aschersleben und der Agrarmeteorologischen Forschungsstation Aschersleben des Meteorologischen und Hydrologischen Dienstes der DDR

Möglichkeiten der Desinfektion fettfleckenkranken Bohnensaatgutes durch Antibiotika unter Berücksichtigung des Einflusses meteorologischer Faktoren

Von

M. Klinkowski, H. Köhler und H. Schrödter

Mit 17 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — Experimenteller Teil. — Isolierungs- und Kultivierungsmethoden der Antagonisten. — Strichtest. — Quadrattest. — Zylindertest. — Versuche zur Bekämpfung der Fettfleckenkrankheit der Bohne durch Saatgutbeizung mit antibiotikumhaltigen Kulturfiltraten. — Versuche über die innertherapeutische Wirkung der Antibiotika. — Der Einfluß meteorologischer Faktoren auf den Beizeffekt. — Versuchsserie 1952. — Versuchsserie 1953. — Diskussion der meteorologischen Untersuchungen. — Diskussion der sonstigen Versuchsergebnisse. — Zusammenfassung. — Literatur.

Einleitung

Im Verlauf des letzten Jahrzehntes haben sich neue Gesichtspunkte für die Bekämpfung bakterieller Krankheitserreger der Kulturpflanzen ergeben. In früherer Zeit waren wir zur Verhütung derartiger Erkrankungen lediglich auf prophylaktische Maßnahmen angewiesen. Dort wo zur Anwendung chemischer Mittel geraten wurde, handelte es sich in keinem Falle um spezifische Bakterizide. Wir dürfen heute hoffen, daß diese Lücke durch die Anwendung der Antibiotika geschlossen werden kann. Viele Untersuchungen haben gezeigt, daß diese konstitutionell unterschiedlichen Stoffwechselprodukte spezifische Wirkungsspektra besitzen. Damit eröffnet sich die Aussicht, mit Hilfe dieser zum Teil neuartigen chemischen Verbindungen bakterielle Krankheitserreger direkt zu bekämpfen, da die Antibiotika wesentliche Funktionen des Bakterienstoffwechsels lahm legen können bzw. in das Fermentsystem der Bakterien einzugreifen vermögen. Wenn auch die letzten Fragen nach dem Wirkungsmechanismus der Antibiotika noch ihrer Klärung harren, hofft man doch, mit ihnen Verbindungen in der Hand zu haben, die maßgeblich störend

in die Stoffwechselprozesse der Mikroorganismen eingreifen, ohne ähnliche Funktionen auch auf den Organismus der höheren Pflanze auszuüben. Bezüglich näherer Einzelheiten sei u. a. auf die Arbeiten von KÖHLER (1950—1953), DARPOUX (1954) und KLINKOWSKI (1954) verwiesen. Im Anfangsstadium der Antibiotikaforschung wurde meist rein empirisch untersucht, welche technischen Möglichkeiten im praktischen Pflanzenschutz für die Anwendung der Antibiotika bestehen. Heute befinden wir uns am Beginn einer neuen Periode, die die wissenschaftliche Vertiefung dieser Erkenntnisse zum Gegenstand haben muß. Erst dann, wenn wir nähere Einblicke gewonnen haben, werden wir übertriebene Hoffnungen auf ein vernünftiges Maß reduzieren können und Aussicht haben, die Antibiotika in sinnvoller und zweckentsprechender Weise zur Anwendung zu bringen.

Unsere eigenen Untersuchungen, die den Erreger der Fettfleckenkrankheit der Bohne (*Pseudomonas phaseolicola* [Burkh.] Dowson) zum Gegenstand hatten, wurden vor vier Jahren begonnen, worüber schon kurz berichtet worden ist (KLINKOWSKI, 1952). Der genannten Bohnenbakteriose kommt im mitteldeutschen Samenanbaugebiet in einzelnen Jahren größere wirtschaftliche Bedeutung zu. Wie bei allen Bakteriosen der Kulturpflanzen waren auch hier keine direkten Bekämpfungsmaßnahmen bekannt, sondern es wurde lediglich angeraten, der weiteren Ausbreitung einer bereits erfolgten Infektion durch Spritzen mit Kupferkalkbrühe zu begegnen. Die Wirksamkeit dieser Maßnahme war jedoch als sehr problematisch zu betrachten. Epidemiologisch ist im vorliegenden Falle von Bedeutung, daß der Erreger das Saatgut zu infizieren vermag und damit bereits vom Beginn der Entwicklung an auf dem Felde primäre Infektionsreservoire vorhanden sind, von denen aus — bei entsprechenden Umweltverhältnissen — der Erreger weiter zu streuen vermag. Die Ausscheidung verseuchten Saatgutes würde im Hinblick auf diese Zusammenhänge einen wesentlichen Vorteil darstellen und zu erheblich geringeren wirtschaftlichen Verlusten führen. Eine mechanische Auslese auf Grund der Fleckenbildung auf den Samen, führt hierbei nicht zum Ziel; andere Möglichkeiten waren bisher nicht bekannt. Der Zweck unserer Untersuchungen bestand darin, zu prüfen, ob eine Desinfektion fettfleckenverseuchten Bohnensaatgutes mit Hilfe der Antibiotika zu erreichen ist.

Experimenteller Teil

Isolierungs- und Kultivierungsmethoden der Antagonisten

Bei den durchgeführten Versuchen wurde mit den Kulturfiltraten selbst isolierter Antagonisten, *Penicillium chrysogenum* (Prager Stamm), *Streptomyces griseus* (zur Verfügung gestellt von Dr. THREN-Radebeul)*) und vergleichsweise mit reinem Penicillin und einem Streptomycinrohprodukt gearbeitet. Das Penicillin, die bei der Aufarbeitung anfallenden Beistoffe, die ebenfalls untersucht wurden, und das Streptomycin stellte uns dankenswerterweise Herr Prof. Dr. KNÖLL-Jena zur Verfügung.

*) Herrn Dr. THREN sei für die Überlassung der Kulturen bestens gedankt.

Zunächst soll die Isolierung selbstgewonnener Antagonisten näher beschrieben werden:

1 g frische Feld- oder Walderde, aus 10 bis 20 cm Tiefe entnommen, wurde in 10 ml Leitungswasser aufgeschwemmt. Von dieser Aufschwemmung wurde je 1 ml in sterile Petrischalen pipettiert und mit 22 ml Agar überschichtet, der vorher im ganzen mit *Pseudomonas phaseolicola* angeimpft wurde. Der Erreger der Fettfleckenkrankheit war von kranken Bohnenpflanzen des Freilandes isoliert worden. Es wurden Ein-Zell-Kulturen angelegt, mit diesen gesunde Bohnenpflanzen infiziert und der Erreger reisoliert, so daß stets mit frischem Erregermaterial gearbeitet wurde. Als Nähragar zur Isolierung diente Pepton-Glukose-Agar:

Pepton	10 g
NaCl	5 g
Glukose	30 g
Agar	20 g
Wasser	1000 ml
pH	7,2

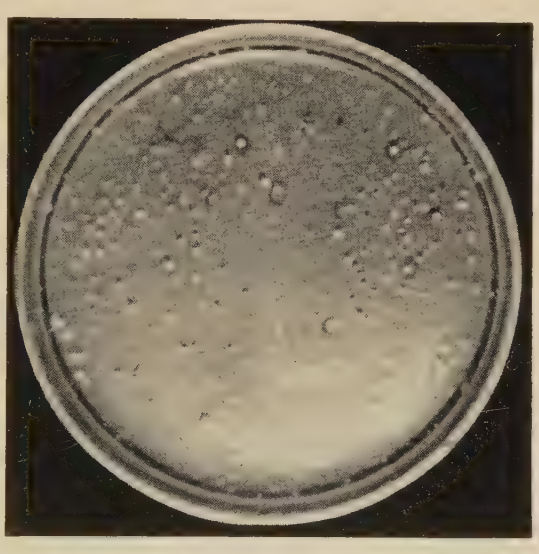


Abb. 1. Erdaufgußplatten mit Hemmhöfen. Testorganismus: *Pseudomonas phaseolicola*

Nach viertägiger Bebrütung der Erdaufgußplatten bei 20° C wurden nur solche Organismen für die weiteren Kulturen ausgewählt, die auf dem mit dem Testorganismus bewachsenen Agar einen Hemmhof aufwiesen (Abb. 1). Bei den Antagonisten handelte es sich in erster Linie um Angehörige der Gattung *Penicillium* und um Aktinomyceten. Es konnten auch Bakterien isoliert werden, die sich gegenüber dem Erreger der Fettfleckenkrankheit als aktiv erwiesen. Sie waren jedoch bei weiteren Testen (Lochtest) nicht wirksam genug, so daß ihre Verwendung zur Desinfektion des infizierten Saatgutes unterblieb. Von den isolierten Penicillien und Aktinomyceten wurden wiederholt Einsporkulturen angelegt, um morphologisch und physiologisch konstante Antagonisten zu erhalten. Die Penicillien wurden auf einem Melasseagar, die Aktinomyceten auf einem Erdagar zur Weiterkultur gehalten.

Melasseagar

Melasse	100 g (Zuckergehalt 38—42 %)
K_2HPO_4	3 g
Agar	20 g
Wasser	1000 ml

Nach erfolgtem Aufkochen wird, mit Phenolphthalein als Indikator, neutralisiert mit $NaHCO_3$

Erdagar

Leitungswasser	1000 ml
Gartenerde	1000 g

1 Std. bei 1 atü oder mit 2000 ml Leitungswasser auf freier Flamme 2 Std. kochen, danach die trübe Flüssigkeit abgießen und durch ein doppeltes Faltenfilter filtrieren. Den ersten, trüb durchlaufenden Anteil erneut filtrieren. Man erhält 800 ml Flüssigkeit, der man 0,05 % K_2HPO_4 zusetzt. Es werden angesetzt:

obiger Bodenextrakt	200 ml
Dextrose	10 g
K_2HPO_4	5 g
$MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$	2 g
aqua dest.	800 ml
Agar	15 g

Es erwies sich zur Erhaltung der antibiotischen Aktivität zweckmäßig, zwischen den Passagen über feste Nährböden in bestimmten Zeitabständen Passagen über flüssige Nährmedien einzuschalten, wenn auch auf beiden festen Nährböden nur selten Degenerationserscheinungen auftraten. Die von

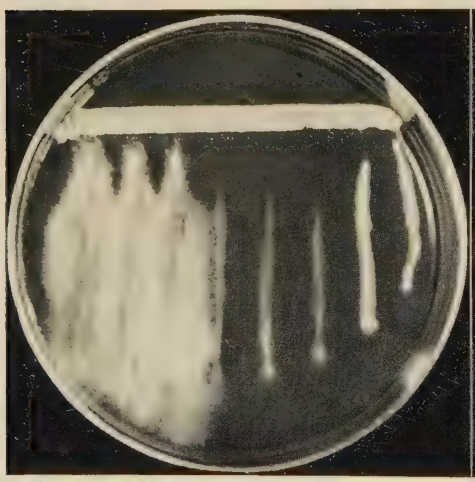


Abb. 2. Strichtest bei Verwendung des Antagonisten *Streptomyces albus*. Testorganismen von links nach rechts: *Fusarium culmorum*, *Pseudomonas phaseolicola* und *Alternaria circinans*

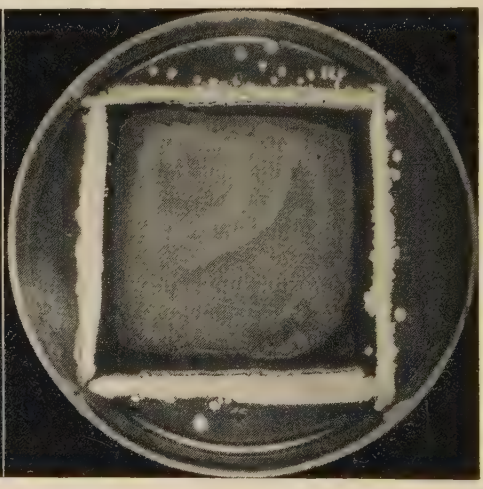


Abb. 3. Quadrattest. Testorganismus: *Pseudomonas phaseolicola*

einer Ausgangskultur erhaltenen Einsporkulturen wurden im Strich- oder im Quadrattest wertmäßig auf ihre antibiotischen Eigenschaften miteinander verglichen, die aktivsten für weitere Versuche ausgewählt und die weniger aktiven verworfen.

Strichtest

Auf einem geeigneten Nähragar (Penicillien: Melasseagar; Aktinomyceten: Erdagar) in Petrischalen wird der Antagonist in Strichform als Kreis-

sekante aufgeimpft. Nach einer Bebrütung von vier bis fünf Tagen bei 23 ° C wurden in rechtem Winkel mehrere Testorganismen aufgeimpft, und nach einer weiteren Bebrütung von 48 bis 72 Stunden bei gleicher Temperatur wurde die Hemmzone (wachstumsfreier Bezirk) gemessen (Abb. 2).

Quadrattest

Vier verschiedene Antagonisten werden in Quadratform auf einen Nähragar aufgeimpft. Nach einer Bebrütung von vier bis fünf Tagen bei 23 ° C wird eine Aufschwemmung des Testorganismus in das Quadrat hineingesprüht. Nach erneuter Bebrütung von zwei- bis dreitägiger Dauer bei 20 ° C wird die Größe der Hemmzone ausgemessen (Abb. 3).

Während beim Strichtest nur ein Antagonist auf einer Platte gegen verschiedene Testorganismen ausgetestet werden kann, ist es beim Quadrattest möglich, vier verschiedene Antagonisten auf einer Platte gegenüber einem Testorganismus wirkungsmäßig vergleichen zu können.

Die Antagonisten, die sich bei den ersten Testen am aktivsten zeigten, wurden jetzt zur Gewinnung größerer Mengen antibiotikumhaltiger Kulturfiltrate in flüssigen Medien herangezogen. Als Kulturgefäße fanden 300 ml Erlenmeyerkolben Verwendung. Als Nährlösungen erwiesen sich als optimal Czapek-Dox, modifiziert, für die Penicillien und Emerson für die Aktinomyceten. Die Nährlösungen wurden zu je 100 ml in die Erlenmeyerkolben eingefüllt; wie üblich sterilisiert und beimpft.

Czapek-Dox Nährlösung, modifiziert:

Melasse	60 g (Zuckergehalt 38—42 %)
KNO_3	3 g
KH_2PO_4	1 g
$MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$	0,5 g
$FeSO_4 \cdot 7\,H_2O$	0,01 g
KCl	0,5 g
Leitungswasser	1000 ml
pH	7,0

Emerson-Nährlösung:

Rindfleischextrakt	4 g
NaCl	2,5 g
Pepton	4 g
Hefeextrakt	1 g
Glukose	10 g
Wasser	1000 ml
pH	7,1

Die beimpften Erlenmeyerkolben blieben sieben Tage bei 23 ° C (Penicillien) und zehn Tage bei 28 ° C (Aktinomyceten) stehen. Die Kulturlösung wurde dann zur Entfernung des Myzels durch ein Glasfilter G 4 filtriert. Die auf diesem Wege erhaltene klare Kulturflüssigkeit wurde nochmals zur Ermittlung ihrer antibiotischen Aktivität im Zylindertest wertmäßig bestimmt. Dieser Test erwies sich zur Feststellung der Aktivität der Kulturlösungen als notwendig, weil nicht alle Antagonisten gleichmäßig gut unter den herrschenden Kulturbedingungen ihre Antibiotika in die Kulturlösung abgeben. Darüber hinaus diente der Test auch dazu, die Kulturfiltrate auf annähernd die gleiche Antibiotikakonzentration zu bringen, um die erhaltenen Ergebnisse der verschiedenen Versuche miteinander vergleichen zu können. Die Kulturfiltrate der Penicillien hatten etwa 300 und die der Streptomyceten 80 IE (internationale Einheiten).

Zylindertest

In sterile Petrischalen wurden je 22 ml steriler Pepton-Glukose-Agar gegossen. Nach Erstarrung des Nährbodens wurden 2 ml des mit *Pseudomonas phaseolicola* beimpften und auf 45 bis 47 ° C abgekühlten 1,5%igen Nähragars darauf gegossen und sofort gleichmäßig verteilt. Auf den derart beimpften Agar wurden sterile Glaszylinder aufgesetzt, die mit den Kulturfiltraten verschiedener Verdünnungsstufen gefüllt wurden. Die Platten wurden 48 Stunden bei 20 ° C bebrütet, die Größe der Hemmhöfe kurvenmäßig erfaßt und die Aktivität bestimmt (Abb. 4).

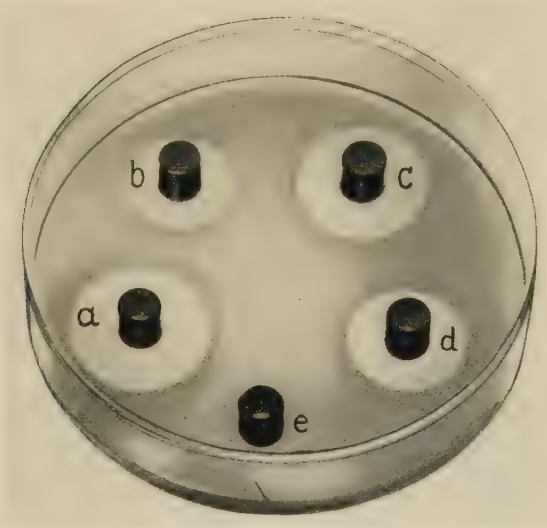


Abb. 4. Zylindertest. Testorganismus *Pseudomonas phaseolicola*. a und c Kulturfiltrat 1:10 verdünnt, b und d 1:25 verdünnt, e Kontrolle (unbewachsene Kulturlösung)

Erwiesen sich die Kulturfiltrate nach diesem Test als aktiv, so wurden sie zum Beizen der Bohnen verwendet. Die Kulturlösungen besaßen beim Abbruch der Versuche ein pH von 7,5 bis 7,7.

Versuche zur Bekämpfung der Fettfleckenkrankheit der Bohne durch Saatgutbeizung mit antibiotikumhaltigen Kulturfiltraten

Der erste Versuch (1951) diente zur Klärung der Frage, ob antibiotikumhaltige Kulturfiltrate das Zustandekommen der Erkrankung unterdrücken können, wenn fettfleckeninfiziertes Bohnensaatgut darin gebadet wird, d. h. daß die antibiotikumhaltigen Kulturfiltrate bei den Versuchen als Naßbeizmittel dienten. Im Zusammenhang hiermit war zu klären, welche Beizdauer zur Krankheitsunterdrückung sich als notwendig erweist. Das stark natürlich verseuchte Bohnensaatgut wurde 30, 60 bzw. 120 Minuten in der antibiotikumhaltigen Nährlösung belassen, zwischen Filtrierpapier in dünnen Lagen 48 Stunden lang zurückgetrocknet und im Gewächshaus in Pikierkästen ausgelegt. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Für einen im gleichen Jahre durchgeführten Freilandversuch wurde das Saatgut zwei Stunden in den Kulturfiltraten von *Penicillium chrysogenum* und *Streptomyces griseus* gebadet und sofort ausgelegt. Eine Ernteertragsbestimmung konnte nicht durchgeführt werden, da die unbehandelten Kontrollparzellen ohne Trennreihen zwischen den durch Beizung gesund erhaltenen lagen, so daß, durch die feuchte Witterung begünstigt, starke

Sekundärinfektionen auftraten. Das Versuchsergebnis ist der Tabelle 2 zu entnehmen.

Tabelle 1

Beizwirkung der antibiotikumhaltigen Kulturfiltrate unter Gewächshausbedingungen

Zahl der Samen je Versuch: 370
Sorte: Saxa Bonitierung: 6 Wochen nach Versuchsbeginn

Antagonist	Dauer der Behandlung in Minuten	gesund in %	Blattflecke in %		nicht gekeimt in %	vor Bildung der Primärblätter abgestorben in %
			schwach	stark		
P. chrysogenum	30	66,5	13,8	0,3	19,4	—
P. chrysogenum	60	74,7	0,6	—	24,7	—
P. chrysogenum	120	75,1	0,3	—	24,6	—
S. griseus	30	74,1	6,7	—	19,2	—
S. griseus	60	75,9	0,3	—	23,8	—
S. griseus	120	80,5	0,3	—	19,2	—
Kontrolle	—	30,0	19,6	6,1	37,9	6,4

Analog wie bei den Gewächshausversuchen erwies sich das Kulturfiltrat von *Streptomyces griseus* zur Unterdrückung der Fettfleckenkrankheit am wirksamsten. Dieses Ergebnis war auch zu erwarten, da Streptomycin weitaus stärker gegen gramnegative Bakterien, zu denen *Pseudomonas phaseolicola* gehört, wirkt als Penicillin. Aus den Versuchsergebnissen läßt sich mit Sicherheit folgern, daß es möglich ist, lediglich durch Beizen mit antibiotikumhaltigen Kulturfiltraten das infizierte Saatgut zu entseuchen. Phytotoxische Schäden wurden nicht festgestellt, so daß bei den weiteren Versuchen weder die Beizdauer von zwei Stunden abgekürzt noch die Kulturfiltrate verdünnt werden mußten.

Tabelle 2

Beizwirkung der antibiotikumhaltigen Kulturfiltrate unter Freilandbedingungen

Zahl der Samen je Versuch: 2100
Sorte: Saxa Bonitierung: 6 Wochen nach Versuchsbeginn

Antagonist	Zahl der Pflanzen in %				
	gesund	Befallsstufe			
		1	2	3	4
P. chrysogenum	86,5	0,2	—	—	13,3
S. griseus	92,1	0,1	—	—	7,8
Kontrolle	46,4	24,9	5,1	5,1	18,5

Befallsstufe 1 = schwache Blattflecke
Befallsstufe 2 = starke Blattflecke
Befallsstufe 3 = vor Bildung der Sekundärblätter abgestorben
Befallsstufe 4 = nicht gekeimt bzw. nicht aufgelaufen

In einer weiteren Versuchsserie wurde der Frage nachgegangen, ob die morphologische Beschaffenheit der Bohnensamen (Buntsamigkeit, Dicke der

Tabelle 3

Beizversuch mit antibiotikumhaltigen Kulturfiltraten an natürlich verseuchten Bohnen unterschiedlicher Sortenzugehörigkeit

Zahl der Samen je Versuch: 20

Sorte	Antagonist	Zahl der Pflanzen in %				
		gesund	Befallsstufe			
			1	2	3	4
Kentucky Wonder	*P. chrysogenum*	70	—	—	—	30
	S. griseus	70	—	—	—	30
	Kontrolle	10	10	5	10	65
Little Wonder	*P. chrysogenum*	65	—	—	—	35
	S. griseus	85	—	—	—	15
	Kontrolle	15	20	5	5	55
Wachsspeck	*P. chrysogenum*	85	—	—	—	15
	S. griseus	75	—	—	—	25
	Kontrolle	10	20	10	10	50
Non pareille	*P. chrysogenum*	90	—	—	—	10
	S. griseus	90	—	—	—	10
	Kontrolle	55	5	—	10	30
Mont d'or	*P. chrysogenum*	70	—	—	—	30
	S. griseus	85	—	—	—	15
	Kontrolle	20	20	10	10	40
Wachs Hinrichs Riesen	*P. chrysogenum*	70	—	—	—	30
	S. griseus	65	—	—	—	35
	Kontrolle	25	15	5	10	45
Landreth o. F.	*P. chrysogenum*	50	—	—	—	50
	S. griseus	75	—	—	—	25
	Kontrolle	25	20	5	—	50
Amtsrat Koch	*P. chrysogenum*	90	—	—	—	10
	S. griseus	100	—	—	—	—
	Kontrolle	80	—	—	—	20
Plentiful	*P. chrysogenum*	50	—	—	—	50
	S. griseus	60	—	—	—	40
	Kontrolle	20	20	—	10	50
Commodore	*P. chrysogenum*	100	—	—	—	—
	S. griseus	100	—	—	—	—
	Kontrolle	40	50	—	—	10
Grazer Frostbohne	*P. chrysogenum*	100	—	—	—	—
	S. griseus	100	—	—	—	—
	Kontrolle	40	10	20	10	20
Canadian Wonder	*P. chrysogenum*	90	—	—	—	10
	S. griseus	100	—	—	—	—
	Kontrolle	30	60	—	—	10
Grazer Wachs	*P. chrysogenum*	50	—	—	—	50
	S. griseus	50	—	—	—	50
	Kontrolle	10	20	20	—	50

Tabelle 3 (Fortsetzung)

Sorte	Antagonist	Zahl der Pflanzen in %				
		gesund	Befallsstufe			
			1	2	3	4
Golden Wachs	*P. chrysogenum*	40	—	—	—	60
	S. griseus	60	—	—	—	40
	Kontrolle	40	10	—	—	50
Schreibers 1 B	*P. chrysogenum*	50	—	—	—	50
	S. griseus	70	—	—	—	30
	Kontrolle	10	20	—	—	70
Neger	*P. chrysogenum*	80	—	—	—	20
	S. griseus	85	—	—	—	15
	Kontrolle	40	5	10	10	35
Wachs Flageolet	*P. chrysogenum*	95	—	—	—	5
	S. griseus	100	—	—	—	—
	Kontrolle	45	45	—	—	10
Wunder des Marktes	*P. chrysogenum*	90	—	—	—	10
	S. griseus	95	—	—	—	5
	Kontrolle	60	30	—	—	10
Zuckerkern W	*P. chrysogenum*	90	—	—	—	10
	S. griseus	80	—	—	—	20
	Kontrolle	45	5	10	20	20
Wunder Butter	*P. chrysogenum*	65	5	—	—	30
	S. griseus	70	5	—	—	25
	Kontrolle	35	25	—	—	40
Grüne Riesen	*P. chrysogenum*	75	—	—	—	25
	S. griseus	75	—	—	—	25
	Kontrolle	30	25	—	—	45
Black Valentine	*P. chrysogenum*	85	—	—	—	15
	S. griseus	90	—	—	—	10
	Kontrolle	15	25	5	15	40

Befallsstufe 1 = schwache Blattflecke
Befallsstufe 2 = starke Blattflecke
Befallsstufe 3 = vor Bildung der Sekundärblätter abgestorben
Befallsstufe 4 = nicht gekeimt bzw. nicht aufgelaufen

Samenschale u. a.) das Eindringen der Antibiotika verhindert bzw. verzögert, so daß das Antibiotikum nicht mehr in der wirksamen Konzentration zum Erreger gelangt. Die Versuche wurden mit natürlich infiziertem Saatgut von 22 verschiedenen Bohnensorten durchgeführt. Die Bohnensamen wurden zwei Stunden in den Kulturfiltraten von *Penicillium chrysogenum* bzw. *Streptomyces griseus* gebadet, 48 Stunden zwischen Filtrierpapier zurückgetrocknet und dann ausgelegt. Auch hier erfolgte nur eine Bonitierung auf Primärbefall, da der Versuch ohne Isolierungsreihen angelegt wurde, so daß durch Sekundärinfektion der ursprüngliche Beizeffekt zur Zeit der Reife unübersichtlich wurde. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengestellt worden.

Bei allen untersuchten Sorten gelang es, den Ausbruch der Fettfleckenkrankheit zu unterbinden. Wie schon von WINTER und WILLEKE (1951) nachgewiesen werden konnte, können die Antibiotika dank ihrer relativ geringen Molekulargröße von den Pflanzenwurzeln in wirksamer Konzentration aufgenommen werden. Durch die Ergebnisse unserer Versuche gelang auch der Nachweis, daß morphologische und histologische Unterschiede der Bohnensamen keine unterschiedliche Antibiotikumdurchlässigkeit bedingen. Ferner zeigt sich bei dem Sortenversuch die gleiche Erscheinung, wie auch bei den anderen Versuchen, daß die antibiotikumhaltigen Kulturfiltrate nicht nur nahezu völlig den Ausbruch der Fettfleckenkrankheit verhindern können, sondern daß auch der Anteil der durch starke Infektion nicht mehr keimfähigen Bohnensamen vermindert wird.

Tabelle 4

Beizversuch im Gewächshaus mit Kulturfiltraten verschiedener Antagonisten

Zahl der Samen je Versuchsreihe: 25 / Sorte: Saxa

Antagonist	Zahl der Pflanzen in %				
	gesund	Befallsstufe			
		1	2	3	4
Streptomyces griseus	100	—	—	—	—
Streptomyces albus	96	—	—	—	4
Streptomyces spec.	88	4	—	—	8
Penicillium chrysogenum	96	—	—	—	4
Penicillium spec.	100	—	—	—	—
Penicillium spec.	100	—	—	—	—
Penicillin	72	12	4	—	12
Beistoffe des Penicillins	60	12	12	—	16
Kontrolle	40	24	12	4	20

Befallsstufe 1 = schwache Blattflecke
Befallsstufe 2 = starke Blattflecke
Befallsstufe 3 = vor Bildung der Sekundärblätter abgestorben
Befallsstufe 4 = nicht gekeimt bzw. nicht aufgelaufen

In weiteren Versuchen sollte der Frage nachgegangen werden, ob sich unter den selbst isolierten Antagonisten noch aktivere Organismen befinden, die einen Krankheitsausbruch vollständig verhindern können. Die orientierenden Versuche wurden im Gewächshaus durchgeführt. An Hand dieser Versuchsbefunde sollten die geeigneten Antagonisten für den Freilandversuch 1952 ausgesucht werden. Zum Vergleich mit den Kulturfiltraten dienten das reine Penicillin und die bei der Reinigung des Penicillins anfallenden Beistoffe. Beide Substanzen wurden in sterilem Aqua dest. in einer Konzentration von 250 p. p. m. aufgelöst. Die Bohnen wurden in den Lösungen zwei Stunden lang gebadet und ohne anschließende Trocknung sofort ausgelegt. Die Versuchsergebnisse finden sich in Tabelle 4.

Die Feldversuche 1952 wurden — unter Zugrundelegung der in Tabelle 4 ersichtlichen Ergebnisse — mit den Kulurfiltraten von *Streptomyces griseus, Penicillium* spec., dem reinen Penicillin und den bei der Reinigung des Penicillins anfallenden Ballaststoffen durchgeführt. Während das Penicillin und seine Beistoffe nur relativ geringe Aktivität besitzen, erwiesen sich die Kulturfiltrate der beiden erstgenannten Organismen am wirksamsten. Mit ihrer Hilfe war es möglich, den Krankheitsausbruch unter Gewächshausbedingungen (Tabelle 4) 100%ig zu verhindern. Das reine Penicillin und die Ballaststoffe wurden trotz ihrer hier ersichtlichen geringen Wirksamkeit auch unter Freilandbedingungen zum Vergleich in die Versuche einbezogen, da die Frage geklärt werden sollte, ob bei der Bekämpfung pflanzlicher Parasiten die Verwendung konzentrierter und hoch gereinigter Antibiotika sich als notwendig erweist. Auf Grund der Gewächshausversuche (Tabelle 4) konnte erwartet werden, daß auch antibiotikumhaltige Kulturfiltrate gleichen Anforderungen genügen bzw. den gereinigten Präparaten überlegen sind. Ähnliche Beobachtungen der Überlegenheit der Streptomycinrohprodukte gegenüber den Streptomycinreinsalzen zur Bekämpfung der Fettfleckenkrankheit teilten auch Starr, Burke, Smith, Hildreth und Paulus (1951) mit.

Die Freilandversuche dienten weiterhin zur Klärung der Frage, ob die ansteigende Bodentemperatur im Frühling bzw. die Bodentemperatur überhaupt einen Einfluß auf den Wirkungsmechanismus der Antibiotika besitzen und welche Faktoren für eine günstige Beizwirkung verantwortlich gemacht werden können. Der Lösung dieser Fragen dienten Aussaatzeitenversuche verbunden mit der Feststellung genauer meteorologischer Daten. Wir werden später auf diese Frage zurückzukommen haben.

Natürlich infizierte Bohnensamen der Sorte „Saxa" wurden zwei Stunden bei Zimmertemperatur in den Kulturfiltraten gebadet; Penicillin und seine Beistoffe wurden in sterilem Aqua dest. in einer Konzentration von 250 p.p.m. aufgelöst und die frisch hergestellten Lösungen ebenfalls zur Beize verwendet. Die Samen wurden bei diesem Versuch nicht zurückgetrocknet, sondern sofort ausgelegt (Zahl der Samen je Parzelle: 960). Bei den Versuchen sollte der Samenertrag jeder Parzelle ermittelt werden, um die durch die Bekämpfung der Krankheit verhüteten Ertragsdepressionen zu erfassen. Es erwies sich hierfür als notwendig, Sekundärinfektionen von Parzelle zu Parzelle zu erschweren und möglichst zu unterbinden.

Durch sechs Trennreihen Siegeshafer zwischen den Parzellen gelang es, den Sekundärbefall so niedrig zu halten, daß er ohne großen Einfluß auf den Ertrag gewesen sein dürfte. Aus den Erntegewichtsbestimmungen der Tabelle 5 tritt das Wirkungsausmaß der antibiotikumhaltigen Kulturfiltrate klarer und eindeutiger in Erscheinung, als aus den Befallsbonitierungen, da die Bohnen durch starke Spätfröste im Anbaujahr beschädigt wurden und zum Zeitpunkt der Bonitierung deshalb kein ganz eindeutiges Bild boten. Die Erntegewichte der Kontrollparzellen waren annähernd gleich (3,95, 4,00 und 3,97 kg), so daß aus diesen Werten das Mittel genommen und als 100 gesetzt werden konnte. Ähnliche relativ übereinstimmende Werte konnten auch bei den Ver-

Abb. 5. Freilandversuch 1952: links: Kontrollparzelle, rechts: gebeizt mit Kulturfiltrat von *Penicillium* spec.

Tabelle 5

Freilandversuch 1952 zur Bekämpfung der Fettfleckenkrankheit mit antibiotikumhaltigen Kulturfiltraten, Penicillin und den Beistoffen des Penicillins

Versuchssorte: Saxa

Antagonist	Aussaat-termin	Auflauf in % der Kontrolle	Befallsstufe, 6 Wochen nach der Aussaat	Erntegewicht in % der Kontrolle
Streptomyces griseus	5. 5.	185,9	4	79,9 *)
Streptomyces griseus	5. 5.	180,7	3	100,0 *)
Penicillium spec.	7. 5.	74,2	5	40,4 *)
Streptomyces griseus	7. 5.	73,2	5	38,2 *)
Penicillium spec.	9. 5.	188,4	2	175,4
Kontrolle	9. 5.	100,0	5	100,0
Penicillium spec.	12. 5.	165,4	2	136,6
Penicillium spec.	12. 5.	198,1	0	242,1
Streptomyces griseus	14. 5.	165,4	2	126,3
Streptomyces griseus	14. 5.	86,2	4	82,0
reines Penicillin	16. 5.	128,3	2	115,7
Kontrolle	16. 5.	100,0	5	100,0
Beistoffe des Penicillins	19. 5.	136,1	3	117,8
Streptomyces griseus	19. 5.	149,2	2	128,0
reines Penicillin	21. 5.	99,0	3	87,8
Streptomyces griseus	21. 5.	199,5	0	259,6
Penicillium spec.	23. 5.	170,2	2	171,9
Streptomyces griseus	23. 5.	196,6	1	224,6
Streptomyces griseus	26. 5.	198,7	0	250,8
Kontrolle	26. 5.	100,0	2	100,0

*) durch Spätfröste stark geschädigt.

Befallsstufe 0 = gesund
Befallsstufe 1 = geringer Befall (unter 10 %)
Befallsstufe 2 = mäßiger Befall (10 bis 30 %)
Befallsstufe 3 = mäßig starker Befall (30 bis 50 %)
Befallsstufe 4 = starker Befall (50 bis 90 %)
Befallsstufe 5 = sehr starker Befall (über 90 %)

suchen 1953 erreicht werden, so daß hier genau so verfahren wurde. Der Bekämpfungserfolg wird aus der Abb. 5 ersichtlich.

Bei den mit Kulturfiltraten von *Penicillium* spec. gebeizten Bohnen fiel der üppige Wuchs der Pflanzen auf, der sich bis zur Reife der Bohnen zeigte. Auffallend war noch die Tatsache, daß das reine Penicillin bei Aussaat am 16. Mai wirksamer war als unter Gewächshausbedingungen. Wie aus den später noch zu erörternden Versuchsergebnissen zu entnehmen ist, ist der Grund hierfür darin zu suchen, daß zur Zeit der Aussaat eine günstigere Bodentemperatur für einen Bekämpfungserfolg vorlag.

Im Jahre 1953 wurde nochmals mit der gleichen Versuchsanordnung ein Freilandversuch angelegt, um die 1952 erhaltenen Ergebnisse zu überprüfen. Auch diesmal wurde natürlich verseuchtes Saatgut der Sorte „Saxa" verwendet. Leider war der Befall mit dem Erreger der Fettfleckenkrankheit nicht so stark, wie in den vergangenen Jahren, so daß die Unterschiede der behandelten Samen zur Kontrolle bei den Erntegewichtsbestimmungen nicht so deutlich in Erscheinung traten. Relativ betrachtet konnten jedoch ähnlich gute Bekämpfungsergebnisse wie im Jahre 1952 erzielt werden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 zusammengestellt.

Bei dem Versuch 1953 erwies sich wie im Vorjahr das Kulturfiltrat von *Streptomyces griseus* zur Bekämpfung der Fettfleckenkrankheit der Bohne innerhalb gewisser Grenzen ebenso geeignet, wie das von *Penicillium* spec. Bei den behandelten Parzellen fiel es immer wieder auf, daß, abgesehen von der erheblichen Reduzierung der Fettfleckenkrankheit, die Pflanzen einen üppigeren Wuchs zeigten, bei stärkerem Blütenansatz auch früher blühten und im Ernteertrag weit über der Kontrolle lagen. Dies fiel um so mehr auf, da zum Teil 1953 die Bohnen der behandelten Parzellen weniger gut aufliefen als die der Kontrollparzellen. Möglicherweise war diese Erscheinung damals auf eine gewisse phytotoxische Wirkung auf Keim- bzw. Triebkraft zurückzuführen. Die aufgelaufenen Pflanzen zeigten keinerlei äußerlich sichtbare Schädigungen, sondern waren — wie bereits erwähnt — weitaus kräftiger als die Kontrollpflanzen. Stimulationseffekte bei Anwendung der Antibiotika konnten von dem einen von uns (H. Köhler) auch in Versuchen mit Mohn beobachtet werden, worüber an anderer Stelle berichtet werden soll.

In einem weiteren Versuch sollte der Frage nachgegangen werden, ob die Zeitspanne zwischen Beizen und Auslegen der Bohnensamen einen Einfluß auf das Maß der Krankheitsunterdrückung besitzt. Vom 1. Dezember 1952 bis 15. Mai 1953 wurden in 14tägigen Abständen je 25 Bohnen der Sorte „Saxa" in Kulturfiltraten von *Streptomyces griseus, Penicillium* spec. und Wasser zwei Stunden lang gebadet, zwischen Filtrierpapier zurückgetrocknet und dann bis zur Aussaat bei Temperaturen von durchschnittlich 10 ° C gehalten. Die Bohnensamen wurden zu diesem Zweck in Mullsäckchen gefüllt und luftig aufgehängt. Die Aussaat aller Proben in das Freiland erfolgte am 15. Mai 1953. Die Ergebnisse des Versuches sind in Tabelle 7 zusammengestellt worden.

Tabelle 6

Bohnenfreilandversuche 1953 zur Bekämpfung der Fettfleckenkrankheit bei natürlich infiziertem Saatgut mit antibiotikumhaltigen Kulturfiltraten

Versuchssorte: Saxa

Antagonist	Aussaattermin	Auflauf in % der Kontrolle	Befallsstufe, 6 Wochen nach der Aussaat	Erntegewicht in % der Kontrolle
Kontrolle	11. 5.	100,0	1	100,0
Penicillium spec.	11. 5.	85,6	1	233,3
Streptomyces griseus	11. 5.	123,5	1	165,7
Penicillium spec.	13. 5.	95,8	2	93,8
Streptomyces griseus	13. 5.	120,0	1	117,1
Penicillium spec.	15. 5.	105,2	0	131,4
Streptomyces griseus	15. 5.	114,5	4	107,1
Kontrolle	18. 5.	100,0	3	100,0
Penicillium spec.	18. 5.	105,8	1	124,7
Streptomyces griseus	18. 5.	105,8	1	110,4
Penicillium spec.	20. 5.	120,0	2	113,4
Streptomyces griseus	20. 5.	107,4	1	114,7
Penicillium spec.	22. 5.	89,1	2	66,6
Streptomyces griseus	22. 5.	129,8	1	140,9
Kontrolle	26. 5.	100,0	2	100,0
Penicillium spec.	26. 5.	85,1	2	82,9
Streptomyces griseus	26. 5.	110,6	1	133,3
Penicillium spec.	27. 5.	103,9	0	138,5
Streptomyces griseus	27. 5.	120,0	2	127,2
Streptomyces griseus	29. 5.	116,4	2	122,2
Penicillium spec.	1. 6.	67,5	3	67,7
Streptomyces griseus	1. 6.	100,0	2	120,2
Kontrolle	3. 6.	100,0	2	100,0
Penicillium spec.	3. 6.	67,8	3	107,1
Streptomyces griseus	3. 6.	108,2	1	120,3
Penicillium spec.	5. 6.	87,3	2	124,7
Streptomyces griseus	5. 6.	79,3	2	134,8
Penicillium spec.	8. 6.	60,6	2	133,3
Streptomyces griseus	8. 6.	96,9	1	141,6
Penicillium spec.	10. 6.	130,6	1	152,3
Streptomyces griseus	10. 6.	115,6	1	133,3
Kontrolle	12. 6.	100,0	3	100,0
Penicillium spec.	12. 6.	84,7	2	116,3
Streptomyces griseus	12. 6.	107,0	2	116,3
Penicillium spec.	15. 6.	86,3	1	119,9
Streptomyces griseus	15. 6.	120,0	1	150,5
Penicillium spec.	17. 6.	100,0	1	132,7
Streptomyces griseus	17. 6.	100,0	1	150,0
Kontrolle	19. 6.	100,0	2	100,0
Penicillium spec.	19. 6.	92,2	0	156,5

Befallsstufe 0 = gesund
Befallsstufe 1 = kaum Befall (unter 10 %)
Befallsstufe 2 = mäßiger Befall (10 bis 30 %)
Befallsstufe 3 = mäßig starker Befall (30 bis 50 %)
Befallsstufe 4 = starker Befall (50 bis 90 %)

Tabelle 7

Einfluß der Zeitspanne zwischen Beizen und Auslegen des Saatgutes auf den Ausbruch der Fettfleckenkrankheit der Bohne

Versuchssorte: Saxa

Termin der Beize	*Penicillium* spec.		*Streptomyces griseus*		Wasser	
	Befall	Erntegewicht in g	Befall	Erntegewicht in g	Befall	Erntegewicht in g
1. 12.	1	255	0	300	4	140
15. 12.	2	275	2	295	4	122
2. 1.	1	245	1	307	2	200
15. 1.	0	325	1	245	4	185
2. 2.	0	295	2	290	3	210
16. 2.	0	300	0	320	3	245
2. 3.	1	270	0	265	2	240
16. 3.	0	310	0	310	5	105
1. 4.	0	280	1	300	4	200
15. 4.	2	265	1	255	4	195
2. 5.	0	325	0	305	4	220
15. 5.	0	330	0	310	2	235

Befallsstufe 0 = gesund
Befallsstufe 1 = kaum Befall (unter 10 %)
Befallsstufe 2 = mäßiger Befall (10 bis 30 %)
Befallsstufe 3 = mäßig starker Befall (30 bis 50 %)
Befallsstufe 4 = starker Befall (50 bis 90 %)
Befallsstufe 5 = sehr starker Befall (über 90 %)

Obwohl das Saatgut, wie aus der Befallsbonitierung der Kontrolle hervorgeht, nicht gleichmäßig durchseucht war, wie man von natürlich infiziertem Material nicht anders erwarten konnte, geht aus Tabelle 7 eindeutig hervor, daß durch die lange Zeitspanne, die zwischen Beizen und Aussaat verstrichen war, keine Inaktivierung der Antibiotika verzeichnet werden kann. Man kann aus diesen Ergebnissen folgern, daß die Antibiotika während des Beizvorgangs in wirksamer Konzentration in die Samen eindringen und dort zum überwiegenden Teil die Krankheitserreger abzutöten vermögen. Die Zeitspanne zwischen Beizen und Aussaat ist demnach praktisch ohne Belang.

Auch bei diesem Versuch fiel erneut die gleiche Erscheinung wie auch bei den anderen Versuchen auf, daß die geernteten Samenmengen der gebeizten Bohnen weit über dem Durchschnitt der Kontrolle lagen. Diese offensichtlich stimulierende Wirkung konnte in ihren ursächlichen Zusammenhängen noch nicht geklärt werden.

Unter Gewächshausbedingungen sollte noch festgestellt werden, wie das aus der Literatur zur Bekämpfung der Fettfleckenkrankheit bekannte Streptomycin wirkt. Zum Versuch wurde wieder natürlich infiziertes Saatgut der Sorte „Saxa" verwendet. Die Bohnen wurden zwei Stunden in Wasser (Kontrolle) und in 50, 100, 150, 200 bzw. 250 p. p. m. Streptomycinlösung (Streptomycinrohprodukt gelöst in sterilem Aqua dest.) gebadet, 48 Stunden zwischen Filtrierpapier zurückgetrocknet und zur Keimung ausgelegt. Für diesen Versuch fanden nur stark infizierte Bohnensamen Verwendung.

Abb. 6. Die Wirkung einer Beize bei infiziertem Bohnensaatgut mit einem Streptomycinrohprodukt. Oben: 200 p.p.m.; Mitte: 100 p.p.m.; unten ungebeizt

Während die Pflanzen der Kontrolle nach drei Wochen unter den Folgen der Infektion des Fettfleckenerregers abgestorben waren, konnte bereits bei einer Dosierung von 100 p. p. m. der Ausbruch der Krankheit vollständig unterbunden werden. Der Versuch wurde im Gewächshaus in Pikierkästen im optimalen Temperaturbereich für das Auftreten der Fettfleckenkrankheit gehalten (Abb. 6). Bei einer Konzentration von 250 p. p. m. traten an den jungen Bohnenpflanzen phytotoxische Schädigungen auf, die sich besonders durch eine Reduktion der Blattspreite, Verkrümmungen der Blätter und Aufhellung der Interkostalfelder manifestierten (Abb. 7). Durch diesen Versuch konnte bewiesen werden, daß bei einer genügend hohen Aufwandmenge von Streptomycinrohsalz — auch unter für das Auftreten der Fettfleckenkrankheit günstigsten Verhältnissen — das Auftreten bzw. der Ausbruch der Fettfleckenkrankheit vollständig unterbunden werden kann.

Versuche über die innertherapeutische Wirkung der Antibiotika

Im Zusammenhang mit den Beizversuchen sollte noch die Frage geklärt werden, ob die Antibiotika während des Beizvorganges gleichmäßig in die gesunden wie auch in die fettfleckenkranken Bohnensamen einzudringen vermögen und ob das Antibiotikum gleichmäßig verteilt im Samen nachgewiesen werden kann.

Für diesen Versuch wurde das Streptomycinrohsalz in einer Konzentration von 250 p. p. m. in sterilem Aqua dest. aufgelöst und als Beizflüssigkeit in zwei getrennten Schalen für eindeutig kranke und gesunde Bohnensamen benutzt. Nach einer zweistündigen Einwirkungszeit wurden nach Entfernung der Samenschale die Samen halbiert, in Sektoren zerschnitten (Abb. 8) und auf einen Pepton-Glukoseagar in Petrischalen gelegt, der in seiner Gesamtheit mit *Pseudomonas phaseolicola* beimpft worden war. Die kranken Bohnen wurden in zwei Gruppen eingeteilt, je nachdem, ob sie bei „4" oder bei „3" infiziert waren, andere Infektionsstellen blieben unberücksichtigt. Nach einer Bebrütungsdauer von 48 Stunden bei 20 ° C wurde die Größe der Hemmhöfe bestimmt. In Tabelle 8 sind die Durchschnittswerte von je 25 Messungen zusammengefaßt worden.

Abb. 7. Phytotoxische Schädigung bei Beize mit 250 p.p.m. Streptomycinrohprodukt

Nach den Ergebnissen dieses Versuches werden die Antibiotika während der zweistündigen Beizdauer gleichmäßig gut von kranken und gesunden Bohnensamen aufgenommen. Die einzelnen Sektoren sowie die ganzen oder halbierten Bohnensamen geben annähernd die gleichen Hemmhöfe. Damit nicht die außen an den Samen haftende Streptomycinlösung den Test beeinflussen konnte, wurden diese in sterilem Aqua dest. abgespült, kurz abgetrocknet und erst dann ausgelegt.

Zur Prüfung der Frage, ob die Pflanzen auch durch ihre Wurzeln Antibiotika aktiv aufnehmen können, wurden im Gewächshaus Bohnen in Pikierkästen mit sterilem Hohenbokaer Sand angezogen, der mit Knop'scher Nährlösung gegossen wurde. In jedem Pikierkasten befanden sich 25 Pflanzen. Die Erde der Pikierkästen wurde unmittelbar nach Entfaltung der ersten Sekundärblätter der Bohnen mit Kulturfiltraten von *Penicillium* spec. bzw. *Streptomyces griseus* gegossen und die Pflanzen am gleichen Tage mit *Pseudomonas phaseolicola* infiziert. Zu diesem Zweck wurden sie am Blattansatz verletzt, und die frisch hergestellte Organismensuspension in die verletzte Stelle eingerieben. Die Ergebnisse der Befallsbonitierung und der Längen-

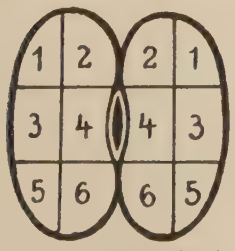


Abb. 8. Schema des in Sektoren zerlegten Bohnensamens (siehe auch Tabelle 8)

messung, die zehn Tage nach der Infektion ermittelt wurden, sind in Tabelle 9 zusammengestellt worden.

Tabelle 8

Eindringungsvermögen eines Streptomycinrohproduktes in einer Konzentration von 250 p.p.m. in gesunde und fettfleckenkranke Bohnensamen der Sorte „Saxa"

Durchschnittswerte von je 25 Messungen

Bohnensame	gesund	Größe des Hemmhofes in mm	
		bei „4" infiziert	bei „3" infiziert
ganz	333	33,7	33,0
ganz (geschält)	332	33,8	33,2
halbiert	329	33,5	33,2
halbiert (geschält)	336	32,9	33,5
Sektor 1	316	32,0	32,6
Sektor 2	320	32,0	32,4
Sektor 3	332	33,2	33,2
Sektor 4	319	33,3	32,9
Sektor 5	329	32,8	33,1
Sektor 6	328	33,0	33,2

Durch diesen Versuch konnte nachgewiesen werden, daß die Antibiotika von den Pflanzenwurzeln aktiv aufgenommen werden und in wirksamer Konzentration in die Leitbündel gelangen, so daß bei genügend hoher Konzentration der Krankheitsausbruch verhindert werden kann. Phytotoxische Schädigungen traten bei diesem Versuch, auch bei der höchsten Konzentration, nicht in Erscheinung.

Tabelle 9

Nachweis der Aufnahme der Antibiotika durch die Wurzeln von Bohnenpflanzen der Sorte „Saxa"

Durchschnittswerte von je 25 Pflanzen

Antibiotikumkonzentration in ml	Befallsstufe	Länge der Pflanzen in cm
Penicillium spec.		
100	2	19,5
150	1	19,5
200	1	20,7
250	0	22,9
300	0	21,2
Streptomyces griseus		
100	1	19,7
150	0	19,5
200	0	22,7
250	0	24,8
300	0	21,8
Kontrolle	4	15,2

Befallsstufe 0 = gesund
Befallsstufe 1 = Infektion auf das infizierte Blatt beschränkt
Befallsstufe 2 = Infektion schwach auf andere Blätter verbreitet
Befallsstufe 3 = Infektion stark auf andere Blätter ausgedehnt
Befallsstufe 4 = Pflanzen teilweise abgestorben, starke Fettfleckensymptome

Der Einfluß meteorologischer Faktoren auf den Beizeffekt

In den einzelnen Versuchsparzellen wurden Bodentemperatur- und Bodenfeuchtigkeitsmessungen durchgeführt, letztere nach der Gewichtsmethode. Die Temperaturmessungen erfolgten mittels zu diesem Zweck konstruierten Thermoelementen aus Kupfer-Konstantan, deren Angaben über einen Sechsfachpunktschreiber registriert wurden. Die Auswertung erfolgte einmal nach Stundenwerten, aus denen Tagesmittelwerte gebildet wurden, zum anderen nach Häufigkeit bzw. täglicher Dauer bestimmter Temperaturbereiche.

Die Wirkung der Antibiotikabehandlung wurde nach Befallsstufen ermittelt. Die Bonitierung erfolgte etwa sechs Wochen nach der Aussaat. Außerdem wurden nach dem Aufgang die Auflaufprozente sowie später das Erntegewicht bestimmt. Sämtliche Bonitierungen wurden auf die jeweilige Kontrolle bezogen. Die relativen Befallsstufen können damit als ein Maß für den Wirkungsgrad der Behandlung angesehen werden.

Versuchsserie 1952

Bei der Beantwortung der Frage nach dem möglichen Einfluß meteorologischer Faktoren auf die Wirkung der Antibiotikabehandlung ergibt sich zunächst als Schwierigkeit, daß der Zeitraum, innerhalb dessen die Antibiotika wirksam sind, unbekannt ist. Führt man andererseits einen Korrelationsvergleich zwischen den Auflaufprozenten und den sechs Wochen später festgestellten relativen Befallsstufen durch, so ergibt sich ein überraschend enger Zusammenhang, der sich in einem hohen, statistisch gesicherten Korrelationskoeffizienten von

$$r = -0{,}855 \text{ (Zufallshöchstwert} = 0{,}44)$$

ausdrückt.

Diese Tatsache besagt, daß in den meisten Fällen die Parzellen mit dem schwächsten Auflauf auch den stärksten Befall zeigten bzw. bei gutem Auflauf der Befall auch nach sechs Wochen nur schwach war. Es besteht natürlich kein totaler deterministischer Zusammenhang zwischen Auflaufprozenten und Befallsstufen, sondern wir haben es auch hier, wie immer bei der Korrelationsrechnung, mit einer Mischung aus deterministischen und aleatorischen Einflüssen zu tun. Nach Gebelein und Heite (1951) stehen diese beiden Einflußkomponenten zum Ergebnis in der gleichen Beziehung wie die Katheten eines rechtwinkligen Dreiecks zur Hypothenuse, wobei der Cosinus jedes Winkels den Korrelationskoeffizienten für den Zusammenhang der den anliegenden Seiten entsprechenden Einflußgrößen angibt. Damit aber läßt sich die Frage beantworten, zu welchem Anteil die eine Größe von der anderen bestimmt wird, indem man die Hypothenuse dieses rechtwinkligen Dreiecks aus den beiden Kathetenabschnitten zusammenfügt, welche r^2 bzw. $1 - r^2$ betragen. Im vorliegenden Falle ergibt sich, daß die zwischen den einzelnen Parzellen mit verschiedenen Aussaatterminen festgestellten Unterschiede in der Wirkung der Antibiotikabehandlung, die sowohl in den Auflaufprozenten als auch in

den relativen Befallsstufen zum Ausdruck kamen, zu rund 73 %, also zum weitaus überwiegenden Teil schon in der kurzen Zeit zwischen Aussaat und Aufgang festgelegt waren. Der Korrelationsvergleich gibt an, daß sich an der qualitativen Differenzierung zwischen den einzelnen Parzellen in der Zeit zwischen Aufgang und Befallsbonitierung kaum etwas geändert hat. Die Wirkung der Antibiotikabehandlung ist also mit Sicherheit in der Zeit zwischen Aussaat und Aufgang eingetreten, so daß die weitere Bearbeitung hinsichtlich eines möglichen Einflusses meteorologischer Faktoren auf diesen Zeitraum konzentriert werden konnte.

Geht man zunächst vom Tagesmittel der Bodentemperatur in Saattiefe aus, so ergibt sich bei der Korrelation mit dem Wirkungsgrad der Behandlung nur für die ersten zwei Tage nach der Aussaat eine statistisch gesicherte Beziehung von der Größe

$$r = -0{,}570 \text{ (Zufallshöchstwert} = 0{,}48).$$

Dieser Korrelationskoeffizient bedeutet, daß je niedriger die mittlere Bodentemperatur in Saattiefe während der ersten zwei Tage nach der Aussaat, um so größer die Wirkung der Antibiotikabehandlung ist. Die mittlere Bodentemperatur der übrigen Tage bis zum Auflaufen erwies sich als bedeutungslos. Lediglich zur Zeit des Aufgangs, etwa um den neunten Tag nach der Aussaat, ergab sich eine gleiche, nur noch wenig unter der Zufallsgrenze liegende Beziehung, so daß vielleicht noch niedrige Mitteltemperaturen zur Zeit des Aufgangs von Bedeutung sein können. Die Betrachtung der Mitteltemperatur muß natürlich gerade dann, wenn es sich wie hier um relativ kurze Zeiträume handelt, unbefriedigend bleiben. Es wurden daher für die anscheinend besonders wichtigen ersten Tage nach der Aussaat die Mittelwerte aufgelöst, d. h. an ihre Stelle die Häufigkeitsverteilung bzw. die Zeitdauer der gemessenen Temperaturwerte gesetzt, letztere in Klassen von je 2 ° C eingeteilt. Das Ergebnis der Korrelation dieser Werte mit dem Wirkungsgrad der Behandlung ist in Abb. 9 dargestellt, und zwar getrennt für die Temperaturen am Tage der Aussaat, während der Zeit von der Aussaat bis einschließlich ersten Tag nach der Aussaat und von der Aussaat bis einschließlich zweiten Tag nach der Aussaat. Aus dieser Darstellung läßt sich zunächst folgendes ablesen: Die Wirkung der Antibiotika ist um so größer,

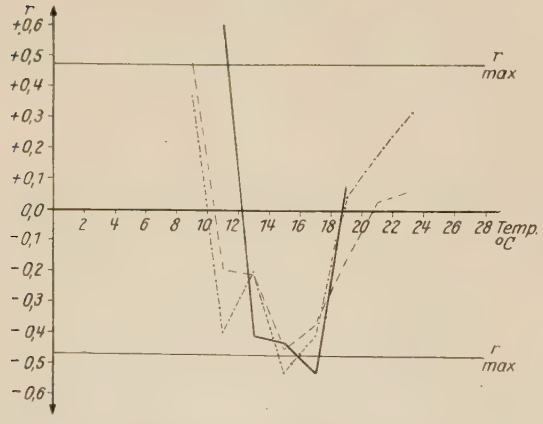


Abb. 9. Korrelation zwischen Wirkungsgrad und Häufigkeit verschiedener Temperaturen am Tage der Aussat (———), von der Aussaat bis einschließlich 1. Tag danach (— — —) und von der Aussaat bis einschließlich 2. Tag danach (—·—·—) (1952)

je länger der Zeitraum ist, während dessen am Tage der Aussaat Temperaturen zwischen 10 und 12 ° C vorhanden sind. Die Wirkung ist jedoch um so geringer, je länger während dieser Zeit bzw. während der ersten zwei Tage nach der Aussaat Temperaturen zwischen 16 und 18 ° bzw. 14 und 16 ° C herrschen. Betrachtet man vergleichend den ziemlich parallelen Verlauf aller drei Kurven, so ist auffällig, daß die Beziehungen zu Temperaturen unter 10 ° C allgemein positiv sind, zwischen 10 und 18 ° C negativ, um über 18 ° C wieder positiv zu werden. Diese Feststellungen deuten an, daß Temperaturen unter 10 ° C die Antibiotikawirkung fördern, sie im Bereich von 10 bis 18 ° C hemmen und über 18 ° C wieder fördern.

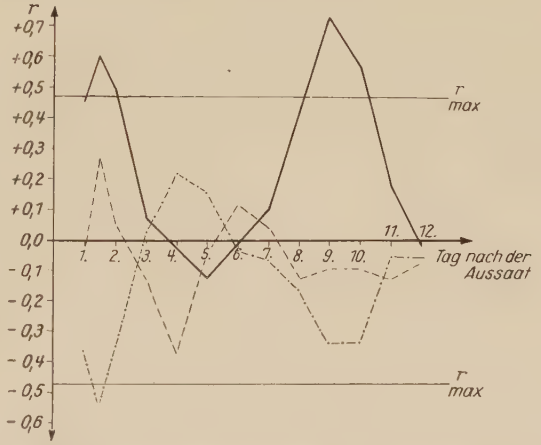


Abb. 10. Korrelation zwischen Wirkungsgrad und Häufigkeit von Temperaturen unter 10 ° (———), zwischen 10 ° und 18 ° (—·—·—) und über 18 ° C (— — —) während verschiedener Zeiten nach der Aussaat. (1952)

Zur genauen Untersuchung dieser Beziehungen wurden auch die übrigen Tage bis zum Auflaufen in die Betrachtungen einbezogen und Korrelationsvergleiche mit der Temperaturdauer durchgeführt. Zu diesem Zweck wurden die Temperaturen in die aus Abb. 9 sich ergebenden drei großen Gruppen eingeteilt, also in Temperaturen unter 10 °, zwischen 10 und 18 ° und über 18 ° C. Diese Ergebnisse sind der Abb. 10 zu entnehmen. Zunächst zeigt sich wiederum mit statistisch gesicherten Werten, daß die Antibiotikawirkung um so größer ist, je länger während der ersten zwei Tage nach der Aussaat Temperaturen unter 10 ° C herrschen, und daß sie um so geringer ist, je länger während der gleichen Zeit Temperaturen zwischen 10 und 18 ° C herrschen. Für die Zeitdauer mit hohen Bodentemperaturen (über 18 ° C) ergibt sich wieder wenigstens andeutungsweise eine positive Spitze. Darüber hinaus aber zeigt sich eine gesicherte positive Korrelation mit der Dauer niedriger Temperaturen zur Zeit des Aufgangs. Wir können dahingehend zusammenfassen, daß die Wirkung der Behandlung um so größer ist, je häufiger unmittelbar nach der Aussaat und zur Zeit des Aufgangs niedrige Temperaturen (unter 10 ° C) herrschen, ferner daß sie um so geringer ist, je häufiger kurz nach der Aussaat Temperaturen zwischen 10 und 18 ° C herrschen. Außerdem scheint es so zu sein, daß Temperaturen über 18 ° C die Wirkung wieder erhöhen.

Es erscheint zunächst merkwürdig, daß sowohl niedrige als auch hohe Temperaturen im gleichen Entwicklungsablauf die Wirkung fördern sollen. So lag die Vermutung nahe, daß es nicht so sehr die Bodentemperaturen an

sich sind, denen der Einfluß zuzuschreiben ist, sondern vielmehr die Tagesschwankung der Bodentemperatur. Nur bei großer Tagesschwankung kommen hohe und niedrige Temperaturen im gleichen Zeitabschnitt häufig vor, während der mittlere Temperaturbereich bei dem raschen Temperaturanstieg und -abfall im Tagesgang schon in verhältnismäßig kurzer Zeit überstrichen wird. Bei der Durchführung der entsprechenden Rechenoperationen mit der Tagesschwankung der Bodentemperatur ergab sich nur andeutungsweise der erwartete Zusammenhang, ohne daß eine statistische Sicherung möglich war. Obwohl verschiedentlich schon auf einen besonderen Einfluß von Temperaturschwankungen auf biologische Vorgänge hingewiesen worden ist, würde es hier wohl doch nicht leicht fallen, den Mechanismus einer solchen Einflußnahme innerhalb des ganzen Komplexes wechselseitiger Beziehungen zwischen Antibiotikum, Bakterium und Pflanze plausibel zu machen. Es liegt daher wohl näher, von der Temperatur bzw. den Temperaturschwankungen zur Wärme als Energieform überzugehen, d. h. zum Wärmeumsatz im Boden, gemessen in cal je cm² und Zeit. Da Wärmeumsatzmesser nicht zur Verfügung standen und ein nach dem Prinzip des Albrecht'schen Wärmeleitfähigkeitsmessers selbst konstruiertes Behelfsgerät nur für kurze Zeit brauchbare Werte lieferte, wurde der Wärmeumsatz mit Hilfe der Bodentemperaturmessungen ermittelt, und zwar in der Weise, wie sie von HORNEY (1951) nach einem Vorschlag von ALBRECHT beschrieben wurde.

Die Untersuchungen über den Wärmeumsatz führten zu einem klaren Ergebnis, das in Abb. 11 dargestellt ist. Die Wirkung der Antibiotikabehandlung ist danach um so größer, je größer die dem Boden während der ersten zwei Tage nach der Aussaat zugeführte Wärmemenge ist. Ein gleichartiger Einfluß der Energiezufuhr deutet sich zur Zeit des Auflaufens an. Führt man die gleiche Rechnung mit der Sonnenscheindauer als annähernd brauchbarem Maß für die Energiezufuhr durch, so ergibt sich, wie die Abb. 11 zeigt, ein völlig gleiches Resultat, bei welchem sich in der entscheidenden Zeit der ersten Tage nach der Aussaat sogar die einzelnen Zahlenwerte fast decken. Die dadurch bewiesene Möglichkeit, die Energieberechnungen durch die Sonnenscheindauer zu ersetzen, ließ nun auch eine Prüfung der weiteren Zeitabschnitte zu bis zur Befallsbonitierung, für die keine ausreichenden Bodentemperaturmessungen mehr vorlagen. Irgendwelche Beziehungen wurden nicht auf-

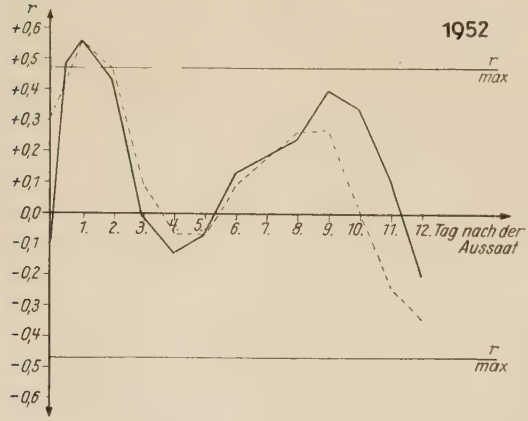


Abb. 11. Korrelation zwischen dem Wirkungsgrad und der dem Boden zugeführten Wärmemenge in cal/cm² (———) bzw. der Sonnenscheindauer in Stunden (— — —) während verschiedener Zeiten nach der Aussaat

gedeckt, so daß angenommen werden darf, daß die meteorologischen Bedingungen nach dem Auflaufen für die Wirkung der Antibiotika ohne Bedeutung sind. Die getrennte Betrachtung der Behandlung mit Kulturfiltraten von *Penicillium* spec. und *Streptomyces griseus* führte zu keiner Abweichung in den Ergebnissen, so daß auch im folgenden unter Wirkung stets die mittlere Wirkung aller Behandlungsarten zu verstehen ist.

Damit ist für die Versuchsreihe des Jahres 1952 festgestellt, daß die Wirkung der Antibiotikabehandlung um so größer war, je niedriger die Temperatur und je höher die Zufuhr an Wärmeenergie während der ersten zwei Tage nach der Aussaat und zur Zeit des Aufgangs war. Die Wirkung der Behandlung ist hierbei zum weitaus überwiegenden Teil bereits während der ersten beiden Tage nach der Aussaat eingetreten.

Versuchsserie 1953

Die entsprechenden Versuche im Jahre 1953 zeigten zunächst allgemein schwächeren Befall in allen Parzellen einschließlich der Kontrollen, da das verwendete Saatgut wesentlich weniger stark verseucht war als im Vorjahr. Damit wurden auch die Wirkungsunterschiede von Versuch zu Versuch kleiner, waren aber noch deutlich genug, um die Untersuchungen in gleicher Weise durchzuführen wie im Jahre 1952. Der Korrelationsvergleich zwischen Auflaufprozenten und Befallsbonitierung ergab einen Wert von

$$r = -0{,}532 \text{ (Zufallshöchstwerte} = 0{,}48).$$

Somit besteht auch eine gesicherte Beziehung, die von einer gewissen Übereinstimmung spricht, doch geht ebenfalls daraus hervor, daß diesmal die Wirkungsunterschiede nur zu rund 28 % vor dem Auflaufen festgelegt waren. Ein weiterer Unterschied zu den Versuchen des Vorjahres besteht darin, daß sich keine gesicherte Beziehung zur mittleren Bodentemperatur irgendeines Zeitraumes finden läßt. Die Auflösung der Mittelwerte zeigt, daß Temperaturen unter 10 ° C fast überhaupt nicht vorgekommen sind. Die Rechnung mit Temperaturen zwischen 10 und 18 ° C und darüber ergibt zwar auch keinen völlig gesicherten Zusammenhang, zeigt aber wenigstens im Prinzip die gleiche Tendenz des Vorjahres, nämlich negative Wirkung mittlerer, positive Wirkung hoher Temperaturen, mit dem Unter-

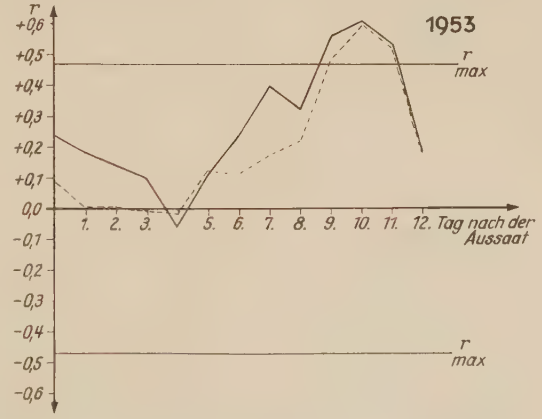


Abb. 12. Korrelation zwischen dem Wirkungsgrad und der dem Boden zugeführten Wärmemenge in cal/cm² (———) bzw. der Sonnenscheindauer in Stunden (— — —) während verschiedener Zeiten nach der Aussaat

schied, daß dies nicht wie 1952 unmittelbar nach der Aussaat, sondern erst zur Zeit des Auflaufens der Fall ist.

Zu klaren Ergebnissen führt die Arbeit mit Wärmeenergie und Sonnenscheindauer, wie die Abb. 12 zeigt. An die Stelle der ersten Tage nach der Aussaat als entscheidendem Zeitraum tritt aber hier die Zeit des Auflaufens, die 1952 offenbar eine weniger bedeutsame Rolle spielte. Diese Verschiebung des Wirkungszeitraumes von den ersten Tagen nach der Aussaat bis zur Zeit des Aufgangs macht es auch verständlich, warum der Korrelationsvergleich zwischen Auflaufprozenten und Befallsstufen ungünstiger ausfallen mußte, denn die Behandlung wirkte in diesem Falle nicht vor, sondern erst während des Aufgangs.

Für die Versuchsreihe des Jahres 1953 muß damit festgestellt werden, daß die Wirkung der Behandlung um so größer war, je höher die Wärmezufuhr zur Zeit des Auflaufens war. Da niedrige Temperaturen fast völlig fehlten, waren entsprechende Beziehungen zur Temperatur wie im Jahre 1952 nicht zu ermitteln.

Diskussion der meteorologischen Untersuchungen

Es muß zunächst festgestellt werden, daß es sich bei den oben angeführten Ergebnissen stets um die Beziehungen zwischen den meteorologischen Faktoren und der Antibiotikawirkung bzw. dem Komplex gegenseitiger Beeinflussungen zwischen Antibiotikum, Bakterium und Pflanze handeln muß, nicht etwa lediglich um den Einfluß auf Bakterium bzw. Pflanze allein. Erreger und Wirt waren in den unbehandelten Kontrollen den gleichen meteorologischen Bedingungen unterworfen wie die behandelten Parzellen, ohne daß diese unter sich gleiche oder ähnliche Unterschiede im Auflauf oder im Befall aufwiesen. Die Kontrollen zeigten fast unterschiedslos schwachen Auflauf und starken Befall.

Die Ergebnisse beider Versuchsjahre beweisen zunächst, daß der Wärmeumsatz im Boden bzw. die dem Boden zugeführte Wärmemenge von wesentlicher Bedeutung für den Erfolg und den Wirkungsgrad der Antibiotikabehandlung des verseuchten Saatgutes sind. Aus den Korrelationen läßt sich folgern, daß die beobachteten Unterschiede im Behandlungserfolg zu etwa einem Drittel allein auf unterschiedliche Energiezufuhr zurückzuführen sind, wobei wahrscheinlich eine Wärmemenge von rund 105 cal je cm^2 und Tag für eine 100%ige Wirkung erforderlich sein dürfte. Wenn man bedenkt, daß es sich bei diesem Problemkreis um außerordentlich verwickelte Vorgänge und Beziehungen handelt, bei denen zweifellos eine ganze Reihe von Faktoren eine bedeutende Rolle spielen, dann muß der Anteil des Einflusses der Wärmeenergie (33,7 %) als sehr groß bezeichnet werden, während andererseits aus den gleichen Gründen die Abweichungen in den Versuchsergebnissen der beiden Jahre nicht überraschen können. Diese Abweichungen sind es andererseits, die uns einen gewissen Einblick in die Vielfältigkeit des komplizierten Wirkungsmechanismus zwischen meteorologischen Faktoren, Antibiotikum, Erreger und Wirt vermitteln.

Nach den Untersuchungen von Goss (1940) gelingen Infektionen mit *Pseudomonas phaseolicola* zwischen 12 und 32 ° C. Bis zu 20 ° C entwickelt sich der typische, bei 24 ° C nur noch ein schwacher Fettfleck. Demnach haben wir das Optimum für die Entwicklung des Bakteriums bzw. für die Infektion bei Temperaturen über 12 ° und dicht unter 20 ° C zu suchen. Temperaturen unter 12 ° C sind also für eine Infektion ungünstig. Betrachten wir daraufhin nochmals die in den Abb. 9 und 10 dargestellten Ergebnisse, so fällt uns sofort auf, daß eine günstige Wirkung der Behandlung dann eingetreten ist, wenn zur Zeit der Aussaat und unmittelbar danach häufig Temperaturen herrschten, die unterhalb des Infektionsoptimums lagen, daß die Wirkung aber um so geringer war, je häufiger infektionsbegünstigende Temperaturen herrschten. Auch die bei Temperaturen über 18 ° C wenigstens andeutungsweise positive Korrelation zum Wirkungsgrad findet darin eine Erklärung. Daß sie keine gesicherten Werte erreicht, liegt offensichtlich nur daran, daß 1952 höhere, für die Infektion ungünstige Temperaturen während der Versuchszeit nicht bzw. nur so selten vorkamen, daß z. B. in Abb. 9 die Kurve bei 22 bis 24 ° C abbrechen muß, also bei Temperaturen, die zwar oberhalb des Optimums liegen, aber noch nicht als ausgesprochen ungünstig zu bezeichnen sind. Der Zusammenhang zwischen niedrigen Temperaturen zur Zeit des Aufgangs und dem Wirkungsgrad läßt sich in gleicher Weise deuten.

Das Ausbleiben einer Wirkung niedriger Temperaturen auf das Bakterium in den Kontrollen ist völlig klar, da die ungünstigen Temperaturen nicht dauernd, sondern nur während einer beschränkten Zeit je Tag herrschten. Die Temperaturen der übrigen Tageszeiten boten aber dem Bakterium günstige Entwicklungsmöglichkeiten, so daß es sich in den Kontrollen praktisch ungehindert entwickeln konnte, was zu dem beobachteten gleichmäßigen Befall dieser Parzellen führte. Danach ist anzunehmen, daß die Wirkung des Antibiotikums sich in der Hauptsache auf diejenige Tageszeit konzentriert, in der das Bakterium durch ungünstige Temperaturen ohnehin gehemmt ist.

In diesem Sinne lassen sich die Ergebnisse beider Versuchsjahre völlig miteinander in Einklang bringen, so daß wir zu folgender Vorstellung über den Einfluß meteorologischer Faktoren auf den Beizeffekt kommen:

Wird das Bakterium unmittelbar nach der Aussaat durch niedrige Temperaturen ungünstig beeinflußt, so tritt bei hoher Energiezufuhr eine erste rasche Wirkung der Antibiotika ein, und zwar innerhalb der ersten beiden Tage nach der Aussaat. Hat nach erfolgtem Auflaufen die Pflanze einen bestimmten Entwicklungszustand erreicht, und setzt sie ihrerseits dem Fortschreiten der Erkrankung einen gewissen Widerstand entgegen, wobei zusätzlich niedrige Temperaturen in dieser Zeit auf das Bakterium ungünstig wirken, so gewinnt die Antibiotikabehandlung nochmals einen von der Größe der Energiezufuhr abhängigen Einfluß. Herrschen zur Zeit der Aussaat und unmittelbar danach Temperaturen, die für das Bakterium optimal sind, wie dies für das Jahr 1953 zutraf, so tritt die entscheidende Wirkung des Antibiotikums erst zur Zeit des Auflaufens ein.

Diese Auffassung wird bestätigt, wenn man für die fraglichen Zeiten, d. h. die ersten Tage nach der Aussaat und die Zeit des Aufgangs, die Mittelwerte der als wesentlich erkannten meteorologischen Elemente bildet (d. h. Mittelwerte über alle Versuche) und diese für beide Versuchsjahre einander gegenüberstellt, wie es in nachstehender Tabelle geschehen ist.

Tabelle 10

Mittelwerte der wirksamen meteorologischen Elemente während der entscheidenden Zeiten der Versuchsjahre

1952				1953			
zugeführte Wärmemenge in cal pro cm² u. Tag	Häufigkeit von Temp. unter 10° C in Stunden pro Tag	mittlere Bodentemp. in °C	mittlere Bodenfeuchtigkeit in %	zugeführte Wärmemenge in cal pro cm² u. Tag	Häufigkeit von Temp. unter 10° C in Stunden pro Tag	mittlere Bodentemp. in °C	mittlere Bodenfeuchtigkeit in %
in den ersten Tagen nach der Aussaat							
93,5	3,4	14,3	18,4	94,4	0,8	19,6	20,2
zur Zeit des Aufgangs							
108,8	4,8	14,8	18,8	105,0	0,1	20,8	20,3

Aus den Werten der Tabelle ist zu ersehen, daß der wesentlichste Unterschied zwischen den beiden Jahren in den Temperaturen liegt. Während im Jahre 1952 die mittlere Temperatur in den fraglichen Zeiträumen nur wenig über dem Infektionsminimum lag und infektionsungünstige Temperaturen (unter 10 ° C) täglich recht häufig vorkamen, herrschten 1953 nahezu ausschließlich Temperaturen, die dem Infektionsoptimum entsprachen. Die mittlere zugeführte Wärmemenge war in den beiden Jahren mit rund 100 cal je cm² und Tag praktisch gleich.

Ein weiterer Nachweis für die Richtigkeit dieser Auffassung läßt sich auf folgende Weise erbringen: Ordnet man die Versuchsserien jeden Jahres nach der mittleren Bodentemperatur während der ersten drei Tage nach der Aussaat und unterteilt sie dann in je zwei Teile, von denen der eine die Versuche mit niedrigen, der andere diejenigen mit hohen Temperaturen zur Zeit der Aussaat umfaßt, so erhält man vier neue Versuchsserien mit unterschiedlicher mittlerer Bodentemperatur, und zwar für 1952 zwei Serien mit 13,4 bzw. 15,4 ° C und für 1953 zwei Serien mit 16,4 bzw. 22,4 ° C. Führt man nunmehr die Auswertung in der gleichen Weise durch wie bei den ungeteilten Versuchsreihen, so findet man wiederum in allen Fällen einen gesicherten Einfluß des Wärmeumsatzes. Dabei sind es für die Serie 13,4 °/1952 wiederum die ersten Tage nach der Aussaat, in denen die Behandlung wirksam geworden ist, jedoch ohne das zweite schwächere Maximum zur Zeit des Aufgangs, das in Abb. 11 zu erkennen ist. Bei der Serie 15,4 °/1952 aber zeichnen sich sowohl die ersten Tage nach der Aussaat als auch die Zeit des Aufgangs ziemlich gleichwertig als der eigentliche Wirkungszeitraum ab. Dies bedeutet, daß wir uns bei dieser mittleren Temperatur offenbar an der Grenze befinden, wo die Begünstigung des Erregers durch optimale Temperaturen für die Infektion und damit die Verschiebung des Wirkungszeitraumes

von der Aussaat bis zum Aufgang einsetzt. Die interessantesten Ergebnisse jedoch liefern die Serien 16,4 °/1953 und 22,4 °/1953, die in Abb. 13 dargestellt sind. Während bei der für die Infektion günstigen Temperatur von 16,4 ° C die Wirkung (wie in Abb. 12) erst zur Zeit des Aufgangs einsetzt, erfolgt sie bei 22,4 ° C, also bei einer Temperatur oberhalb des Optimums, genau so wie bei suboptimalen Temperaturen bereits zur Zeit der Aussaat.

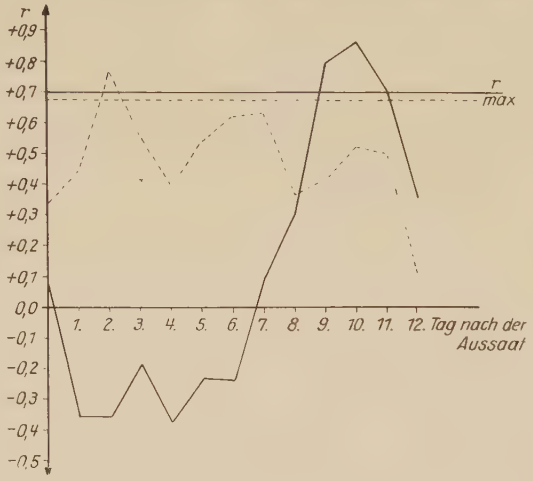


Abb. 13. Korrelation zwischen Wirkungsgrad und Wärmemenge bei 16,4 ° (———) und 22,4 ° C (– – – –) mittlerer Bodentemperatur nach der Aussaat (1953)

Trägt man den beobachteten mittleren Wirkungsgrad für diese sechs Versuchsserien in ein Wirkung-Temperatur-Diagramm ein (Abb. 14, offene Kreise) und kennzeichnet die Punkte nach dem zugehörigen Wirkungszeitraum (S = unmittelbar nach Aussaat, A = um den Aufgang), so hebt sich deutlich der zwischen den beiden senkrechten Linien eingeschlossene Bereich heraus, innerhalb dessen die Wirkung erst zur Zeit des Aufgangs mit verminderter Stärke einsetzt und der offenbar fast identisch ist mit dem von Goss (1940) angegebenen Optimalbereich für die Infektion. In dem mittleren beobachteten Wirkungsgrad ist noch der Einfluß des unterschiedlichen Wärmeumsatzes enthalten. Dieser wurde mit Hilfe der aus den Korrelationen sich ergebenden Regressionsgleichungen eliminiert durch Umrechnung des beob-

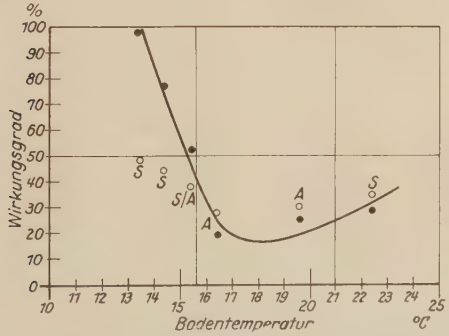


Abb. 14. Abhängigkeit des beobachteten mittleren Wirkungsgrades (○) und des auf 100 cal Energiezufuhr reduzierten Wirkungsgrades (●) von der Temperatur am 1. bis 3. Tag nach der Aussaat. (S = Wirkung unmittelbar nach Aussaat eingetreten, A = Wirkung zur Zeit des Aufgangs eingetreten)

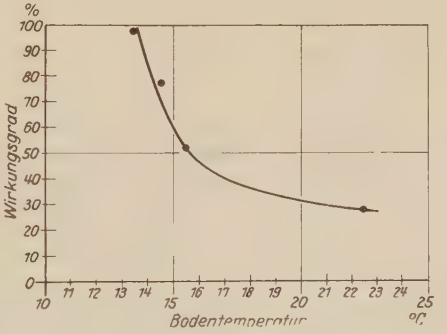


Abb. 15. Reine Abhängigkeit des Wirkungsgrades von der Temperatur bei 100 cal Energiezufuhr (zeitunabhängig)

...ihrem Wirkungsgrade der einzelnen Serien auf den Wirkungsgrad bei konstanter Energiezufuhr von 100 cal je cm² und Tag. Jetzt sind, wie die durch Kurvenzug verbundenen Punkte der Abb. 14 zeigen, die Wirkungsunterschiede noch viel stärker ausgeprägt. Darüber hinaus zeigt sich noch die Tatsache, daß auch bei gleicher Wirkungszeit und gleicher Energiezufuhr der Wirkungsgrad von der Temperatur abhängig ist und mit steigender Temperatur abnimmt. Die Punkte mit gleicher Wirkungszeit (S) aus Abb. 14 ergeben nämlich den in Abb. 15 dargestellten reinen, d. h. von der Bakterienvermehrung und der Wirkungszeit unabhängigen Einfluß der Temperatur auf den Grad der Wirksamkeit.

Auch die Größe der „Abbaugeschwindigkeit", worunter hier die zeitbedingte Abnahme der Wirksamkeit zu verstehen ist, läßt sich nunmehr ermitteln. Die paarweise Gegenüberstellung der aufgespaltenen Versuchsserien nach ihrem auf eine Wärmezufuhr von 100 cal je cm² und Tag umgerechneten Wirkungsgrad, in der Weise, daß immer eine Serie mit der Aussaat als Wirkungszeit einer entsprechenden mit dem Aufgang als Wirkungszeit angeschlossen wird, ergibt die in Abb. 16 dargestellten Kurven für die Zeitabhängigkeit des Wirkungsgrades (ausgezogene Linien). An den Anfang jeder Kurve ist die mittlere Temperatur während der ersten Tage nach der Aussaat geschrieben, an das Ende die mittlere Temperatur der Zeit zwischen Aussaat und Aufgang. Da die letzte der ersten nicht entspricht, stellen diese Kurven nicht die reine Zeitabhängigkeit des Wirkungsgrades dar, sondern eine entsprechend dem Temperaturverlauf zwischen Aussaat und Aufgang kombinierte Wirkung von Zeit und Temperatur. Mit Hilfe der Werte der Abb. 15 läßt sich dieser Temperatureinfluß eliminieren und der Wirkungsgrad zur Zeit des Aufgangs auf die zur Zeit der Aussaat gemessenen Temperaturen umrechnen. Dies ergibt dann die in Abb. 16 gestrichelt eingezeichneten Linien, die nunmehr die reine Zeitabhängigkeit des Wirkungsgrades bei verschiedenen Temperaturen darstellen. Die Neigung der Linie für 13,4° C ist etwas unsicher, da zwar vier gesicherte Werte für die Wirkung zur Zeit der Aussaat, aber nur drei für die Wirkung zur Zeit des Aufgangs vorliegen. Der Anschluß erfolgte daher hier an die Serie 15,4° 1952, bei der zur Zeit des Aufgangs zwei wenig voneinander verschiedene gesicherte Korrelationen festgestellt wurden. Schalten wir diese unsichere Zeitabhängigkeit bei 13,4° aus und betrachten die Neigung der drei übrigen Linien, so stellen wir fest, daß diese

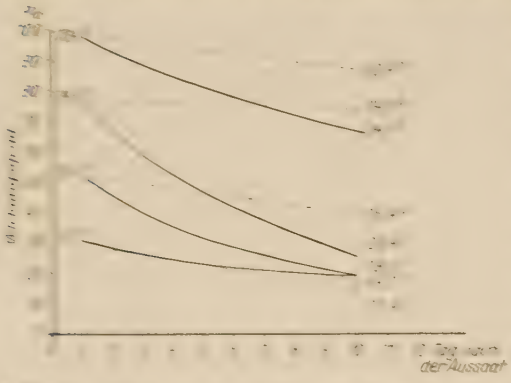


Abb. 16. Abbau bzw. Wirkungsverlust bei verschiedenem Temperaturverlauf zwischen Aussaat und Aufgang (——) und reine Zeitabhängigkeit des Wirkungsverlustes bei verschiedenen konstanten Temperaturen zwischen Aussaat und Aufgang, reduziert auf 100 cal je cm² und Tag [illegible]

Neigung mit steigender Temperatur zunimmt. Sie beträgt bei 14,3 ° C rund 0,6 % je Tag, bei 15,4 ° C rund 1,4 % je Tag und bei 22,4 ° C rund 1,6 % je Tag. Diese Werte besagen, daß auch die Abbaugeschwindigkeit, d. h. der zeitbedingte Wirkungsverlust, eine Funktion der Temperatur ist. Dies erfolgt in der Weise, daß der Abbau nicht nur mit einer bestimmten Geschwindigkeit vor sich geht, sondern mit steigender Temperatur zusätzlich eine Beschleunigung erfährt.

Nunmehr läßt sich die wahre Form der Abhängigkeit des Wirkungsgrades von der zugeführten Energie — unbeeinflußt von den übrigen wirksamen Faktoren — darstellen. Reduziert man für alle diejenigen Versuchskombinationen, bei denen sich als Wirkungszeit die Tage kurz nach der Aussaat ergaben, die bei der gegebenen Temperatur beobachtete mittlere Wirkung im Verhältnis der durch Abb. 15 dargestellten Temperaturabhängigkeit auf eine Temperatur von 13 ° C, so erhält man in Abb. 17 die Kurve a. Diese Kurve gibt den reinen Einfluß der zugeführten Energie auf den Grad der Wirkung im Falle suboptimaler Temperaturen für das Bakterium an. Das gleiche kann für diejenigen Versuchskombinationen durchgeführt werden, bei denen sich die Zeit des Aufgangs als die entscheidende erwies, wobei hier auf die optimale Temperatur von 18 ° C reduziert wurde (Kurve b in Abb. 17). Während bei suboptimalen Temperaturen für die Infektion, wo die Wirkung unmittelbar nach der Aussaat einsetzt, eine Wärmemenge von 105 cal je cm² und Tag für eine 100%ige Wirkung ausreicht, wird bei optimalen Temperaturen für die Infektion bei gleicher Energiezufuhr nur eine Wirkung von 30 % erreicht. Eine Erhöhung der Energiezufuhr vermag keine nennenswerte Steigerung der Wirksamkeit herbeizuführen. Daß diese Tatsache (neben der Temperaturerhöhung auf optimale Werte) vor allem auf den zeitlich bedingten Abbau zurückzuführen ist, zeigt sich, wenn man aus der Kurve a mit Hilfe der Temperaturabhängigkeit nach Abb. 15 und der Zeitabhängigkeit nach Abb. 16 die wegen dieser beiden Einflüsse theoretisch zu erwartende Abhängigkeit vom Wärmeumsatz ermittelt (gestrichelte Kurve c in Abb. 17). Die Übereinstimmung mit der Beobachtung (Kurve b)

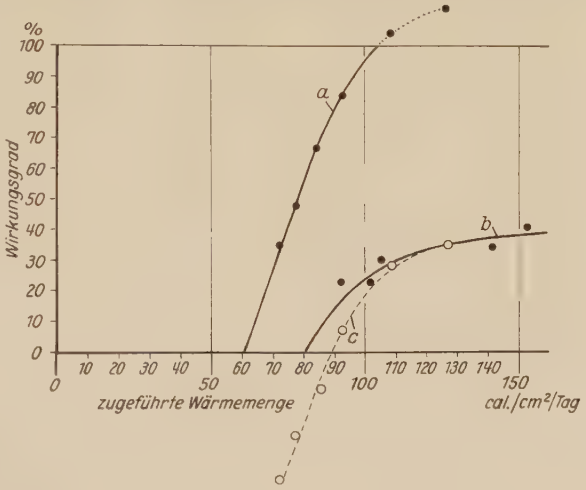


Abb. 17. Reiner Einfluß der zugeführten Energie auf den Wirkungsgrad (a = bei Wirkung kurz nach der Aussaat und 13 ° C Bodentemperatur; b = bei Wirkung zur Zeit des Aufgangs und 18 ° C Bodentemperatur; c = aus Kurve a mit Hilfe von Abb. 15 und Abb. 16 berechnete Abhängigkeit vom Wärmeumsatz bei Wirkung zur Zeit des Aufgangs und 18 ° C Bodentemperatur)

ist recht gut. Die Punkte mit negativem Wirkungsgrad in Kurve c und mit mehr als 100%igem Wirkungsgrad in Kurve a ergeben sich rein rechnerisch durch die Reduktionen und sind naturgemäß ohne Bedeutung. Der Wirkungsgrad kann nach der eingangs gegebenen Definition nur zwischen 0 und 100% liegen. In Wirklichkeit sind hier alle Werte oberhalb 105 cal je cm^2 und Tag gleich 100% bzw. unter 90 cal je cm^2 und Tag gleich 0% zu setzen. Der Zusammenhang zwischen Wärmeumsatz und Antibiotikawirkung ist also nicht streng linear, jedoch ist die Krümmung der Kurven im praktisch in Frage kommenden Bereich nicht allzu groß, so daß die hier durchgeführte Auswertung mit Hilfe linearer Korrelationen vertretbar ist.

Über den Einfluß meteorologischer Faktoren auf die Wirkung der Behandlung lassen sich demnach folgende Aussagen machen:

1. Der Zeitraum, innerhalb dessen die Behandlung wirksam wird, ist abhängig von den thermischen Bedingungen, unter denen der Krankheitserreger steht. Bei Temperaturen unter- bzw. oberhalb des Infektionsoptimums setzt die Wirkung der Behandlung unmittelbar nach der Aussaat ein. Bei Temperaturen innerhalb des Optimalbereiches für die Infektion setzt die Wirkung erst zur Zeit des Aufgangs ein.

2. Der Grad der Wirksamkeit ist abhängig von der dem Boden zugeführten Wärmemenge (gemessen in cal je cm^2 und Tag). Je größer die Wärmemenge, um so besser ist die Wirkung.

3. Der Wirkungsgrad ist auch für sich allein, d. h. unabhängig von der Bakterienentwicklung, eine Funktion der Temperatur. Je höher die Temperatur bei gleichen sonstigen Bedingungen, um so geringer ist die Wirkung.

4. Der Grad der Wirksamkeit ist bei konstanten übrigen Bedingungen abhängig von der Zeit. Je später die Wirkung einsetzt, um so geringer ist sie.

5. Die Abbaugeschwindigkeit (Wirkungsverlust in der Zeiteinheit) ist eine Funktion der Temperatur. Bei steigender Temperatur erfährt der zeitbedingte Wirkungsverlust eine Beschleunigung.

In dem unter 5. genannten Ergebnis spiegelt sich die an sich bekannte Tatsache wieder, daß Kulturfiltrate, wie sie hier verwendet wurden, bei Temperaturen nahe 0°C monatelang, bei hohen Temperaturen dagegen nur kurze Zeit aufbewahrt werden können. Daß in den vorliegenden Untersuchungen aus der Vielzahl der Einflußgrößen auch dieser Faktor herausgearbeitet werden konnte, ist an sich schon ein befriedigender Befund und beweist die Brauchbarkeit der Auswertungsmethoden.

Interessant ist im Rahmen dieser Untersuchungen noch ein Vergleich zwischen dem Wirkungsgrad der Antibiotikabehandlung und dem mittleren Erntegewicht der reifen Bohnensamen. Bei der Versuchsserie 1952 steht einem mittleren Wirkungsgrad von 44% eine Steigerung des mittleren Erntegewichts der behandelten Parzellen, bezogen auf die unbehandelten, von 42% gegenüber. Bei der Versuchsserie 1953 betrug der mittlere Wirkungsgrad 30%, die Steigerung des Erntegewichtes 23%. Auch bei den 1953

durchgeführten Versuchen mit Kulturfiltraten von Aktinomycetenstämmen, die wegen der zu geringen Befallsunterschiede zwischen den einzelnen Parzellen nicht im Sinne der vorliegenden Arbeit ausgewertet werden konnten, zeigt sich das gleiche Verhältnis. Hier steht einem mittleren Wirkungsgrad von 33 % eine Erntegewichtssteigerung von 30 % gegenüber. Diese Zahlenwerte besagen, daß das Erntegewicht in ähnlicher Weise zunimmt, wie sie der Wirkung der Antibiotika auf den Befall entspricht, ja, daß umgekehrt aus der prozentualen Zunahme des Erntegewichtes auf den Wirkungsgrad der Antibiotika geschlossen werden könnte.

Die in Tabelle 10 ebenfalls angegebenen mittleren Werte der Bodenfeuchtigkeit entsprechen einander in beiden Jahren. Versuche, mit Hilfe der angestellten Messungen auch die Frage eines möglichen Einflusses der Bodenfeuchtigkeit zu klären, führten daher zunächst zu keinem befriedigenden Ergebnis, da die Bodenfeuchtigkeitsschwankungen während des Versuchszeitraumes in beiden Jahren nicht erheblich waren. Ob die in Abb. 11 und 12 gezeigte Tatsache der Parallelität zwischen Einfluß der Wärmemenge und Einfluß der Sonnenscheindauer nur darauf zurückzuführen ist, daß die Sonnenscheindauer als rohes Maß für die Energiezufuhr gewertet werden kann, oder ob vielleicht ein direkter oder indirekter Einfluß des Lichtes an sich vorliegt, kann nicht ohne weiteres entschieden werden. Es muß immerhin bedacht werden, daß, wie Untersuchungen von Baumgartner (1953) zeigen, das Licht in lockeren Boden verhältnismäßig tief eindringen kann, besonders natürlich dann, wenn beim Durchbrechen des Keimlings Risse und Bodenspalten entstehen. Die Möglichkeit eines Einflusses des Lichtes ist daher nicht von der Hand zu weisen.

Alle mitgeteilten meteorologischen Versuchsbefunde und die aus ihnen abgeleiteten Schlußfolgerungen haben zunächst nur Gültigkeit für die hier beschriebenen Versuche. Wenn es auch naheliegt, eine allgemeine Gültigkeit anzunehmen (siehe auch Schrödter 1954), so läßt sich darüber von unserem begrenzten Versuchsmaterial her noch nichts aussagen. Diese Frage wird erst durch weitere Arbeiten entschieden werden können.

Diskussion der sonstigen Versuchsergebnisse

Die Fettfleckenkrankheit der Bohne gehört wie alle Bakteriosen zu einer Krankheitsgruppe, deren Erreger einer direkten Bekämpfung bisher nicht zugänglich waren. In derartig gelagerten Fällen sucht man diesen Schwierigkeiten dadurch zu begegnen, daß man die Resistenzzüchtung und die durch sie gebotenen Möglichkeiten in den Kreis der Abwehrmaßnahmen einbezieht. Arbeiten verschiedener Autoren lassen erkennen, daß auf diesem Wege sich aussichtsreiche Möglichkeiten eröffnen. Nähere Angaben sind zu finden bei Burkholder und Zaleski (1932), Stapp (1934, 1935), Stapp und Hähne (1936), Fish und Pugsley (1936), Down und Thayer (1939), Jensen und Goss (1942), Mastenbroek (1943), Wade (1943), Koopman (1944), Burkholder und Bullard (1946), Zaumeyer und Harter (1946), Hubbeling

(1946), SHIRLOW (1947), HILL (1948), BURKE (1949), ORMAN (1949), BRIDGMON (1949), RUDORF (1949) und ANDRUS und HOFFMANN (1950).

Bei der an sich bekannten Problematik, die sich u. a. aus Gründen der biologischen Spezialisierung für das Schicksal resistenter Sorten ergeben können, wird man stets bemüht bleiben, auch andere Möglichkeiten der Bekämpfung zu finden. Die grundlegenden Untersuchungen von FLEMING (1929) haben den Ausgangspunkt für die Entwicklung von Bakteriziden geschaffen. Der Entwicklung auf diesem Gebiete folgend, standen zunächst Penicillin und Streptomycin im Vordergrund des Interesses; heute steigt die Zahl der Antibiotika von Tag zu Tag. In nunmehr dreijährigen Versuchen — im Gewächshaus und im Freiland — haben wir uns der speziellen Frage zugewandt, ob der Erreger der Fettfleckenkrankheit der Bohne durch die Verwendung der Antibiotika als Beizmittel wirkungsvoll bekämpft werden kann. Unsere Versuche berechtigen uns zu der Schlußfolgerung, daß diese Frage bejaht werden darf. Inzwischen liegen ähnliche oder gleichlautende Befunde auch von anderen Autoren vor.

In Beltsville/Maryland (Anonym 1953) wurde Streptomycinsulfat dreimal in wöchentlichen Intervallen angewendet. Die Infektion mit *Pseudomonas phaseolicola* erfolgte drei Tage nach der ersten Behandlung. Die Infektionsrate betrug 41 % und wurde durch die zweite Behandlung auf 10 % reduziert. Die Kontrollparzellen wiesen einen Befall von 90 % auf. Auf Grund dieser Versuchsergebnisse werden zwei Behandlungen als ausreichend angesehen. HILDRETH und STARR (1950) haben den Wirkungseffekt einer Reihe von Antibiotika geprüft. Die Kontrollparzellen wiesen einen Krankheitsbefall von 33,4 bzw. 44,6 % auf. Die Antibiotikabehandlung zeitigte nachstehende Ergebnisse: Chloromycetin 6,3 %, Streptomycin 1,9 bis 3,6 %, Neomycin 1,6 %, Bacitracin 10,6 %, Subtilin 14,7 % und Penicillin 18,7 %. Der höchste Wirkungseffekt wurde bei kombinierter Behandlung mit Penicillin und Neomycin (1,5 %) erreicht. SMITH (1949) berichtete über günstige Erfahrungen mit den Sulfaten und Hydrochloriden des Streptomycins. Die Behandlung erwies sich, bei Infektion nach dem Auflaufen, als besonders wirksam, wenn die zwölffache Menge der Bohnensamen mit der Lösung (Verdünnung 1 : 100) behandelt worden war. Auch ZAUMEYER, THOMAS, MITCHELL und FISHER (1953) arbeiteten mit der Methode der künstlichen Infektion des Pflanzenbestandes. Während die Kontrollparzellen zu 93 % infiziert waren, verringerte eine einmalige Spritzung mit einer 0,1%igen wässerigen Streptomycinlösung + 0,3 % Tween (Netzmittel) den Befall auf 41 %. Bei zwei Behandlungen waren 10 % der Pflanzen erkrankt, bei dreimaliger Anwendung blieb der Bestand krankheitsfrei.

Zur Vervollständigung sei erwähnt, daß noch weitere Autoren über den Einfluß der Antibiotika auf *Pseudomonas phaseolicola* in vitro berichten. DARPOUX und FAIVRE-AMIOT (1948) nennen den Aktinomyceten „105", die gleichen Autoren, in Zusammenarbeit mit ROUX (1950), das Alternarin. GUÉRILLOT-VINET, GUÉRILLOT-VINET, GUYOT, MONTÉGUT und ROUX (1950) betonen die starke Aktivität des Baccatin A (Stoffwechselprodukt von

Gibberella baccata). Lucas und Lewis (1944) wiesen nach, daß *Chelidonium majus* in seinem wässerigen Extrakt ein Antibiotikum enthält, das u. a. auch auf den Erreger der Fettfleckenkrankheit hemmend wirkt. Ein gleiches gilt auch für *Lonicera tatarica*, in deren Preßsaft zwei Antibiotika festgestellt werden konnten. Lucas, Lewis und Sell (1946) wiesen eine hemmende Wirkung von Kohlsamenextrakten nach.

Daß der „Beizvorgang" in unseren Versuchen nicht mit dem Wirkungsmechanismus z. B. einer Quecksilberbeize gleichsinnig ist, konnte unter Beweis gestellt werden. Die systemische Wirkung der Antibiotika schafft erst die Voraussetzung einer bakteriziden Wirkungsmöglichkeit. Über die innertherapeutische Wirkung bestimmter Antibiotika liegen heute ebenfalls Untersuchungsbefunde anderer Autoren vor.

Bereits im Jahre 1947 konnten Anderson und Nienow nachweisen, daß eine Aufnahme des Streptomycins durch die Wurzeln erfolgen kann. Eingehende Untersuchungen über die Aufnahmemöglichkeit und die Wanderung des Streptomycins in der Pflanze haben Mitchell, Zaumeyer und Andersen (1952) und Mitchell, Zaumeyer und Preston (1953, 1954) durchgeführt. Sie wiesen nach, daß bei Stengelbehandlung das Streptomycin rasch von den Stengeln absorbiert wird und meßbare Antibiotikamengen acht Stunden nach der Behandlung nachzuweisen sind. Das Streptomycin wird von den proximalen zu den terminalen Blatteilen weitergeleitet, von der Mittelrippe zum Blattrand und von dem ersten Internodium zu den Primärblättern. Es konnte kein Nachweis dafür erbracht werden, daß das Antibiotikum abwärts geleitet wird. Die Aufnahme durch die Pflanze ist nicht auf Streptomycin beschränkt. Blanchard und Diller (1951) konnten ein gleiches für Aureomycin bei *Phaseolus lunatus* feststellen, das sich in Wurzeln, Blättern und Stengeln nachweisen ließ. Bei Pflanzen in Nährlösungen mit einer Konzentration von 1000 γ/ml ließen sich nach einer Woche bis zu 7,7 γ/g Trockengewicht ermitteln. Die Versuche von Winter (1954) bzw. Winter und Willeke (1951) lieferten ebenfalls den Beweis dafür, daß Antibiotika durch die Pflanze aufgenommen werden.

Unsere Untersuchungen sind zunächst lediglich als Vorversuche zu werten. Ihre praktische Anwendung hat die Klärung einer Reihe weiterer Fragen zur Voraussetzung.

Zusammenfassung

1. Die Isolierung der antagonistisch wirkenden Penicillien und Aktinomyceten aus dem Boden, sowie ihre Nährbodenansprüche und die Feststellung ihrer biologischen Aktivität gegenüber *Pseudomonas phaseolicola* werden beschrieben.

2. Unter Gewächshaus- und Feldbedingungen gelang es an natürlich mit *P. phaseolicola* infiziertem Bohnensaatgut mit den Kulturfiltraten von *Penicillium chrysogenum* und *Streptomyces griseus*, die als Samenbeizmittel angewandt wurden, den Krankheitsbefall stark zu reduzieren. *S. griseus* erwies sich als aktiver als *P. chrysogenum*.

3. Ein Sortenversuch brachte keine unterschiedlichen Ergebnisse in der Unterdrückung der Fettfleckenkrankheit. Sortenbedingte morphologische und histologische Beschaffenheit des Bohnensaatgutes ist ohne Einfluß auf die Eindringungsmöglichkeit der Antibiotika.

4. Unter Feldbedingungen (1952 und 1953) wurde der Beizerfolg der antibiotikumhaltigen Kulturfiltrate von *Streptomyces griseus* und *Penicillium* spec. an Hand von Erntegewichtsbestimmungen ermittelt. Die Werte lagen bis zu 250 % über denen der Kontrolle. Mögliche stimulative Wirkungen der Antibiotika werden diskutiert.

5. Die Kulturfiltrate von *Penicillium chrysogenum* waren aktiver bei der Krankheitsunterdrückung als das reine Penicillin oder die bei seiner Reinigung anfallenden Ballaststoffe, deren Wirkung unbefriedigend war.

6. Die Zeit, die zwischen Behandlung und Auslegen des Saatgutes verstreicht, blieb während der Versuchsdauer ($5^1/_2$ Monate) ohne Einfluß auf den Erfolg der Krankheitsunterdrückung. Die Antibiotika befinden sich — erläutert am Beispiel des Streptomycins — gleichmäßig verteilt in der Bohne.

7. 100 p. p. m. Streptomycinrohsalz sind unter Gewächshausbedingungen ausreichend, — ohne Pflanzenschädigung — einen Krankheitsausbruch zu unterbinden; bei 200 p. p. m. Streptomycin treten phytotoxische Schädigungen auf.

8. Die antibiotikumhaltigen Kulturfiltrate können in wirksamer, krankheitsunterdrückender Konzentration durch die Wurzeln der Bohnenpflanzen, die in Sand angezogen wurden, aufgenommen werden. Toxische Schäden traten bei den verwendeten Konzentrationen nicht auf.

9. Unter Feldbedingungen ist der Beizerfolg von bestimmten meteorologischen Bedingungen abhängig, insbesondere von der Bodentemperatur und dem Wärmeumsatz im Boden.

10. Der Beizerfolg ist um so größer, je größer die dem Boden während der ersten Tage nach der Aussaat zugeführte Wärmemenge ist.

11. Der Beizerfolg nimmt bei gleichen sonstigen Bedingungen mit steigender Bodentemperatur ab.

12. Der Zeitraum, innerhalb dessen die Behandlung wirksam wird, ist abhängig von den thermischen Bedingungen, unter denen der Erreger steht. Bei Temperaturen unter bzw. über dem Infektionsoptimum setzt die Wirkung unmittelbar nach der Aussaat, bei Temperaturen im Optimalbereich jedoch erst zur Zeit des Aufgangs ein.

13. Die Wirkung der Behandlung ist um so geringer, je später sie einsetzen kann. Dieser zeitbedingte Wirkungsverlust (Abbaugeschwindigkeit) erfährt mit steigender Temperatur eine Beschleunigung.

Literaturverzeichnis

Anonym, 1953: Antibiotics control plant diseases. Seed world **73**, 38.

Anderson, H. W. and Nienow, I., 1947: Effect of streptomycin on higher plants. Phytopathology **37**, 1.

Andrus, C. F. and Hoffmann, J. C., 1950: Fullgreen, a blight resistant bush snap bean. Seed world **66**, 16 u. 18.

Baumgartner, A., 1953: Das Eindringen des Lichtes in den Boden. Forstwiss. Cbl. **72**, 171—184.

Blanchard, F. A. and Diller, V. M., 1951: Uptake of aureomycin through the roots of *Phaseolus lunatus*. Amer. J. Bot. **38**, 111—112.

Bridgmon, G. H., 1949: Bacterial blight of the bean; method of inoculation and varietal susceptibility tests. Univ. Wyoming publ. **14**, 63—64.

Burke, D. W., 1949: Tests of hybrid and varietal resistance and direct measures for the control of bacterial blight of beans. Univ. Wyoming publ. **14**, 65.

Burkholder, W. H. and Bullard, E. T., 1946: Varietal susceptibility of beans to *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans*. Plant dis. reptr. **30**, 446—448.

— — and Zaleski, K., 1932: Varietal susceptibility of beans to an american and a european strain of *Phytomonas medicaginis*. Phytopathology **22**, 85—94.

Darpoux, H., 1954: Les antibiotiques dans le traitement des maladies des plantes. 8. Internat. Botanikerkongreß Paris, Section 24, S. 73—82.

— — et Faivre-Amiot, A., 1948: Sur un actinomycète doué de propriétés bactériolytiques remarquables. C. R. Acad. Sci. Paris **226**, 1146—1148.

— —, — — et Roux, L., 1950: Sur un nouvel antibiotique, l'alternarine, et sur quelques autres substances extraites de cultures d'une souche d' *Alternaria solani*. C. R. Acad. Sci. Paris **230**, 993—995.

Down, E. E. and Thayer, J. W., 1939: The Michelite bean. Michigan agric. exp. stat., spec. Bull. 295, 23.

Fish, S. and Pugsley, A. T., 1936: Halo blight of beans. Control by resistant varieties. Victoria dep. agric. J. **34**, 278.

Fleming, A., 1929: On the antibacterial action of cultures of a *Penicillium*, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. British J. exp. pathol. **10**, 226—236.

Gebelein, H. und Heite, H. J., 1951: Statistische Urteilsbildung. Springer-Berlin.

Goss, R. W., 1940: The relation of temperature to common and halo blight in beans. Phytopathology **30**, 258—264.

Guérillot-Vinet, J., Guérillot-Vinet, M., Guyot, L., Montégut, J. et Roux, L., 1950: Sur une substance antibiotique extraite du mycélium de *Gibberella baccata* (Wallr.) Sacc. R. C. Acad. Sci. Paris **230**, 1424—1426.

Hildreth, R. C. and Starr, G. H., 1950: Antibiotics alone and in combinations for the control of bacterial blight of beans. J. Colorado-Wyoming acad. sci. **4**, 58.

Hill, A. J., 1948: Fifty-eighth annual report of the Wyoming agricultural experiment station 1947—48, S. 64.

Horney, G., 1951: Vorschläge für die Durchführung von Messungen des Wärme- und Wasserhaushaltes von Kulturpflanzenbeständen. Meteorol. Rdsch. **4**, 100—103.

Hubbeling, N., 1946: Vatbaarheid van stamslaboonenrassen voor ziekten welke met het zaaizaad overgaan. Meded. inst. veredel. tuinbouwgew. Wageningen **1**, 9 Seiten.

Jensen, J. H. and Goss, R. W., 1942: Physiological resistance to halo blight in beans. Phytopathology **32**, 246—253.

Klinkowski, M., 1952: Möglichkeiten der Entseuchung fettfleckenkranken Bohnensaatgutes durch Antibiotika. Mitt. BZA, Heft 74, S. 19—24.

— —, 1954: Die Antibiotika und ihre Bedeutung in der Phytopathologie. S.-B. Akad. Landwirtschaftswiss. Berlin 3, Heft 17.

Köhler, H., 1950—1953: Antibiotika und ihre Bedeutung in der Pflanzenpathologie I—IV. Nachr.-Bl. dtsch. Pflanzenschutzd. n. F. 4, 161—164, 7, 12—18, 72—78 und 108—113.

Koopman, C., 1944: De bestrijding der vetvlekkenziekte. T. plantenziekten 50, 62—68.

Lukas, E. H. and Lewis, R. W., 1944: Antibacterial substances in organs of higher plants. Science 100, 597—599.

— —, — — and Sell, H. M., 1946: An antibiotic principle derived from seeds of *Brassica oleracea*. Quart. Bull. Michigan agric. exp. stat., 29, 4—6.

Mastenbroek, C., 1943: De vatbaarheid van boonenrassen voor de vetvlekkenziekte. T. plantenziekten 49, 135—162.

Mitchell, J. W., Zaumeyer, W. J. and Andersen, W. P., 1952: Translocation of streptomycin in bean plants and its effect on bacterial blights. Science 115, 114—115.

— —, — — and Preston, W. H., 1953: Movement of streptomycin in bean plants. Phytopathology 43, 480.

— —, — —, — —, 1954: Absorption and translocation of streptomycin by bean plants on the halo and common blight organisms. Phytopathology 44, 25—30.

Orman, A. C., 1949: Field bean improvement. Two projects being undertaken. Agric. gaz. New South Wales 60, 198.

Rudorf, W., 1949: Beobachtungen auf dem Gebiet der Pflanzenzüchtung in USA. Z. Pflanzenzüchtg. 28, 273—354.

Schrödter, H., 1954: Agrarmeteorologische Untersuchungen im Rahmen der Antibiotika-Forschung in der Pflanzenpathologie. Angew. Meteorologie 2, 23—26.

Shirlow, N. S., 1947: Richmond Wonder french bean. A new, heavy-yielding disease resistant variety. Agric. gaz. New South Wales 58, 459.

Smith, W. J., 1949: Seed treatment with streptomycin for the control of bacterial blight of beans. J. Colorado-Wyoming acad. sci. 4, 49.

Stapp, C., 1934: Prüfungen von Busch- und Stangenbohnen auf Widerstandsfähigkeit gegen den bakteriellen Erreger der Fettfleckenkrankheit. Angew. Bot. 16, 207—218.

— —, 1935: Fortgeführte Untersuchungen über die Resistenzverschiedenheiten von Bohnen *(Phaseolus vulgaris)* gegen *Pseudomonas medicaginis* var. *phaseolicola* Burkh. Angew. Bot. 17, 23—42.

— — und Hähne, H., 1936: Zur Frage der Resistenz von Buschbohnensorten gegen den Erreger der Fettfleckenkrankheit *Pseudomonas medicaginis* var. *phaseolicola* Burkh. Angew. Bot. 18, 249—262.

Starr, G. H., Burke, D., Smith, W., Hildreth, R. and Paulus, A., 1951: Antibiotics for bean blight control. Agron. J. 43, 617.

Wade, B. L., 1943: Logan, a new, hardy snap bean. Seed world 53, 12—13 und 40—41.

Winter, A. G., 1954: Recherches sur l'apparition et le rôle des substances antimicrobiennes et antiphytotiques dans les sols naturels. 8. Internat. Botanikerkongreß Paris. Section 24.

— — und Willeke, L., 1951: Über die Aufnahme von Antibiocitis durch höhere Pflanzen und ihre Stabilität in natürlichen Böden. Naturwissenschaften 38, 455—456.

Zaumeyer, W. J. and Harter, L. L., 1946: Pintos 5 and 14. Sth. seedsman 9, 50 und 54.

— —, Thomas, H. R., Mitchell, J. W. and Fisher, H. H., 1953: Field control of halo blight of beans with streptomycin. Phytopathology 43, 407.

Aus dem Institut für allgemeine Botanik der Universität Zürich

Über die polyploidisierende Wirkung eines Samenbeizmittels

Von

A. Bruhin

Mit 12 Abbildungen und 2 Darstellungen

In den letzten Jahren ist eine große Anzahl von polyploidisierenden Substanzen gefunden worden. Neben dem Colchicin, Acenaphthen usw. haben auch organische Quecksilberverbindungen, die zum Teil als Fungizide Verwendung finden, ähnliche Wirkungen. Es sind dies das von Kostoff (1939, 1940) untersuchte Äthyl-Quecksilberchlorid (als aktiver Bestandteil des Fungizides Granosan) und das Äthyl-Quecksilberphosphat (als Wirkstoff des Fungizides Ceresan) (Sass 1937, 1938). Erlanson Macfarlane (1954) untersuchte das Phenyl-Quecksilberhydroxyd und stellte eine polyploidisierende Wirkung in der Nähe der letalen Wirkungsschwelle fest. Da das Phenyl-Quecksilberhydroxyd allein nur schlecht in pflanzliche Gewebe eindringt, weil es nur schwer löslich ist, wurde eine von Goldberg (1950) und Goldberg, Shapero und Wilder (1950 a und b) gefundene Eigenschaft der Sulfonsäuren zunutze gemacht. Viele Derivate der Sulfonsäuren, speziell aber das Phenyl-Hg-Dinaphthylmethandisulfonat, der Wirkstoff des Samenbeizmittels Agrimax M, dringen leicht in tierische Gewebe ein. Die Sulfonsäure führt dabei das sonst nicht eindringende, positiv geladene Phenyl-Hg-Ion mit sich. Dies geschieht bei pflanzlichen Geweben genau gleich (Hopf and Race 1949). Die starke Giftwirkung des Phenyl-Hg-Ions auf höhere Pflanzen soll durch die Wirkung der Sulfonsäure aufgehoben oder doch abgeschwächt werden.

Die Wirksubstanz von Agrimax M, das Phenyl-Hg-Dinaphthylmethandisulfonat, ist an Talk als inertes Trägermaterial gebunden. Es wird in Pulverform als spezifisches Samenbeizmittel hergestellt*). Nach bisherigen Untersuchungen (Hopf, Lhoste and Ravault 1951) sterilisiert es die Samen nicht nur äußerlich, sondern dringt in diese ein und tötet bereits vorhandene Pilzinfektionen ab. Es verhütet Saatkrankheiten, ohne die Keimung zu beeinträchtigen. Die Substanz gibt keine giftigen Dämpfe ab, weil sie nicht flüchtig ist. Sie ist beim Einatmen (Pulver) oder bei Einnahme per os giftig.

*) Die Substanz wurde uns in dankenswerter Weise von der Ketol A. G. Zürich zur Verfügung gestellt.

HOPF, LHOSTE and RAVAULT (1951) behandelten verschiedene Getreidearten mit Agrimax-Lösungen von verschiedenen Konzentrationen. Nach Immersion von Samen in 0,01%igen Lösungen erhielten sie neben normal entwickelten Keimlingen auch solche mit gehemmter Wurzelbildung und Hemmung des Sproßwachstums. Ein ähnliches Bild erhält man nach Behandlung mit Colchicin. Es erschien uns deswegen notwendig, die Substanz zytologisch näher zu prüfen.

I. Vorversuche mit *Avena sativa*

Es werden von HOPF et al. l. c. zwei verschiedene Methoden der Applikation von Agrimax beschrieben: 1. Bestreuen und Vermischen des Samenmaterials mit Pulver; 2. Immersion der Samen, eventuell Quellung derselben in Lösungen von niedrigen Konzentrationen. Die erste Methode eignet sich für quantitative Versuche zur Ermittlung des zytologischen Effektes nicht gut. Je nach Oberflächenbeschaffenheit der Samen ist eine homogene Durchmischung schwierig, während in Lösungen alle Samen von der Flüssigkeit gleichmäßig umspült werden.

In Vorversuchen wurde u. a. *Avena* verwendet, und zwar in zwei Portionen: Ein Teil entspelzt, ein Teil mit Spelzen. Die Samen wurden während 30 Minuten in verschieden konzentrierte Agrimaxlösungen getaucht und in diesen durch Umrühren bewegt. Nach Abschluß der Behandlung wurden sie während einer halben Stunde mit Wasser sorgfältig gewaschen und anschließend auf feuchtem Filterpapier zur Keimung ausgelegt. Die Schalen wurden in Thermostaten bei 20° C bis zur Keimung aufbewahrt. Parallel zu diesen Versuchen wurden Kontrollen angesetzt.

a) *Avena* entspelzt: In der Kontrolle waren bereits am dritten Tage von 100 Samen 98 gekeimt. Nach Behandlung mit Agrimax keimten annähernd so viele (94 bis 97%), doch zeigten etwa 40% äußerlich sehr gut erkennbare Störungen. Bei einem Drittel wuchsen vorerst nur die Sprosse aus, während das Wurzelwachstum stark gehemmt war. In vielen Fällen konnten gar keine Wurzeln ausgebildet werden, oder diese wiesen starke Wachstumsstörungen auf. Gelegentlich bildeten sich am Hypokotyl nach einigen Tagen schwächliche Adventivwurzeln aus. Dann begann der Sproß sich normal zu strecken. Viele Pflanzen holten nachträglich die normalen ein und waren von diesen nicht mehr zu unterscheiden (vgl. Tab. 1).

b) *Avena* mit Spelzen: Ganz anders verhielten sich die nicht entspelzten Früchte. Die Spelzen färbten sich stark blau an, zum Teil blieb an ihnen auch etwas Talk hängen. Dieser konnte auch nach gründlichem Auswaschen nicht immer ganz entfernt werden, so daß in den Spelzen eine geringe Menge der Substanz zurückblieb. Die wenigen Keimlinge, die wir erhielten, bildeten dicke, mit tumorähnlichen Anschwellungen versehene Wurzeln aus (Tab. 1).

Einige Wurzeln wurden fixiert und zu Feulgenquetschpräparaten verarbeitet. Teilungen konnten nur sehr wenige beobachtet werden, aber häufig waren Riesenkerne zu erkennen. Gleiche Versuche wurden auch mit Samen von *Crepis aurea* durchgeführt. Wenn die Samen nach 30 Minuten Behandlung abgespült und zur Keimung ausgelegt wurden, zeigte sich kaum ein Effekt.

Tabelle 1

Verlauf der Keimung nach Behandlung mit Agrimax M

Art	Behandl.	3. Tag				4. Tag				5. Tag			
		gek.	n.	wl.	H.	gek.	n.	wl.	H.	gek.	n.	wl.	H.
Avena	Kontr.	98	98			98	98			98	98		
entspelzt	0,1 %	99	72	9	18	99	85	5	9	99	84	5	10
	0,05 %	97	66	15	16	97	82	12	3	98	82	13	3
	0,01 %	98	79	19		99	83	11	5	99	79	12	5
	0,005 %	99	77	22		99	78	21		99	78	18	2
Avena	Kontr.	72	72			76	76			85	85		
mit	0,1 %	4	4			4	4			10	10		
Spelzen	0,05 %	2	2			4	4			8	8		
	0,01 %	6	6			10	10			10	10		
	0,005 %	5	5			5	5			8	8		

gek. = gekeimt, n. = normal, wl. = wurzellos, H. = Wachstumshemmungen

Betrachten wir die Werte in Tab. 1, so erkennen wir, daß bei längerer Einwirkung noch weniger normale Keimlinge zu erwarten sind. Anhaltendere Wirkung wird auch bei den Körnern mit Spelzen erreicht. In den Spelzen wird Agrimax zurückbehalten, was an der Blaufärbung erkannt werden kann. Es wird von hier aus beständig an die Samen abgegeben. Wurden aber *Crepis aurea*-Samen länger als 30 Minuten während der Quellung in der Lösung belassen oder mit Agrimaxpulver bestreut und anschließend ausgesät, so konnten verschiedene zytologische Störungen in den Wurzelmeristemen beobachtet werden. Die Wurzelspitzen färbten sich stark blau an. Möglicherweise kann an dieser Stelle mehr gespeichert werden als in der Streckungszone.

Als erste Zeichen für die zytologische Aktivität der Substanz fielen uns starke Verkürzungen der Chromosomen auf. Anaphasen konnten nur selten beobachtet werden. Die Chromosomen teilten sich in der Metaphase normal, was zur Polyploidisierung der Zellen führte. Die in bereits tetraploid gewordenen Zellen liegengebliebenen Chromosomen teilten sich nach einiger Zeit erneut. Oft bildeten sich aus Metaphasen direkt Ruhekerne.

Für genauere zytologische Untersuchungen eignet sich die Gattung *Crepis* bedeutend besser als die gewöhnlich gebräuchlichen Testobjekte *Vicia faba* und *Allium cepa*. *Crepis capillaris* besitzt haploid nur drei Chromosomen, die unter sich morphologisch stark verschieden sind und dadurch mit Sicherheit erkannt werden können. Dies trifft bei den beiden anderen erwähnten Arten

nur teilweise zu. Entsprechend der Nomenklatur für die *Crepis*-Chromosomen (BABCOCK 1947) werden diese wie folgt bezeichnet:

A-Chromosomen mit langem Kurzschenkel,
(B- „ mehr median inseriert, fehlt bei *C. capillaris*),
C- „ mit kurzem Kurzschenkel,
D- „ Satellitenchromosom.

Eine polyploide Zelle mit 16 n = 48 Chromosomen kann hier im Gegensatz zu einer 16-n-Zelle von Allium Cepa mit 112 Chromosomen einwandfrei ausgezählt werden (Metaphasen mit verschiedenem Polyploidiegrad cf. Abb. 1 bis 6). In aneuploiden Zellen ist es bei Crepis ohne Schwierigkeit möglich, die fehlenden bzw. überzähligen Chromosomen genau zu erkennen (Abb. 7 bis 9).

Nach Angaben der K e t o l A. G. enthält das untersuchte Agrimax M nur die einleitend beschriebene Wirksubstanz und unlöslichen Talk. Die beiden Anteile wurden bestimmt. 75 % der Substanz gehen in Lösung, während 25 % Rückstand als inertes Trägermaterial angesehen werden kann. In den folgenden Versuchen wurde durchweg die Konzentration von 0,075 % verwendet und gleichzeitig mit der Wirkung einer gleich starken Colchicinlösung verglichen.

II. Versuche mit *Crepis capillaris*

1. Versuchsanordnung

Die Anzucht von *Crepis capillaris* bietet für Testversuche keine Schwierigkeit. In Petrischalen wird etwas Watte gelegt, mit Filterpapier gedeckt, mit Nährlösung angefeuchtet und wenn nötig sterilisiert. Die kleinen Samen werden auf dem Filterpapier ausgelegt, im Thermostaten bei 20 bis 24 ° C gequollen und zur Keimung gebracht. Bereits nach 48 Stunden ist das Material zu Untersuchungen bereit. Es kann auch der Sproßvegetationspunkt zu Untersuchungen verwendet werden, doch setzen hier die Mitosen erst etwas später ein. Voraussetzung ist aber genetisch reines Samenmaterial.

Die Substanz wurde als Samenbeizmittel folgendermaßen appliziert: Zur Quellung der Samen wurde 0,075 % gelöste Substanz in Knop-Nährlösung verwendet. Nach 48 Stunden Behandlung wurden die Samen sorgfältig ausgewaschen und in neue Schalen ausgelegt, die nur Nährlösung enthielten.

2. Beeinflussung der Mitosetätigkeit

Der Anteil der in Teilung befindlichen Zellen im Meristem von *Crepis capillaris* ist im Vergleich zu anderen Pflanzen nicht stark verschieden. Es sind etwa 12 % der Zellen in Teilung begriffen, während wir bereits früher für *Vicia faba* 12 bis 13 % feststellten (BRUHIN und WANNER 1954).

In den Vorversuchen wurde bereits darauf hingewiesen, daß der Stoff die Zellteilungstätigkeit verändern kann. Es ist dies daraus ersichtlich, daß Wachstumshemmungen auftreten. Bei *Avena* konnten nur selten Mitosestadien festgestellt werden. In Tabelle 2 sind die gefundenen Werte für

Mitosen nach Einwirkung von Agrimax M und Colchicin zusammengestellt. Als erstes fällt auf, daß praktisch keine Anaphasen und Telophasen auftreten. Dies ist nach Colchicineinwirkung bereits lange bekannt. Das Fehlen bei Agrimaxbehandlung läßt somit auf eine ähnliche Wirkung wie die des Colchicins schließen. Betrachten wir aber das Total der Mitosen, so sehen wir, daß sich die Pflanzen gegenüber der Kontrolle (mit fast 12 % sich teilenden Zellen) nach Agrimax- und nach Colchicinbehandlung ganz anders verhalten. Während wir bei Agrimax von 5,46 % einen Anstieg über den Wert der Kontrolle bis zu einem Maximum von 18,39 % feststellen können, ist das Maximum bei Colchicin schon zu Beginn des Versuches erreicht und beträgt mehr als das Doppelte von Agrimax. Beim Colchicin stellen wir bereits nach 24 Stunden einen starken Abfall fest, während die Zellteilungstätigkeit nach Agrimaxbehandlung nur allmählich absinkt (cf. Tab. 2 und Darst. 1).

Bereits nach 24 Stunden Immersion der trockenen Samen in Wasser beginnt die Keimwurzel sich zu strecken. Zwischen 24 und 48 Stunden treten die ersten Mitosen auf und erreichen nach 48 Stunden den bereits erwähnten Wert von 12 %. Das Agrimax verzögert den Beginn der Zellteilung ein wenig, während bei Colchicineinwirkung zu dieser Zeit bereits Teilungen auftreten, wo in der Kontrolle nur Ruhekerne festgestellt werden können. Es stellt sich hier die Frage, ob das Colchicin den Quellungs- und Keimungsvorgang beschleunigt, die Mitosetätigkeit aber nicht verändert, so daß die große Anzahl der gefundenen Mitosen nach 48 Stunden sämtliche seit dem verfrühten Keimungsbeginn arretierten Mitosen darstellt, oder aber andererseits, daß die Keimung mehr oder weniger unverändert vor sich geht und die Mitosetätigkeit durch das Colchicin gefördert wird. Den Keimungsvorgang können wir äußerlich verfolgen durch Kontrolle der Größe der auswachsenden Keimwurzel. Nach 48 Stunden können aber noch keine Unterschiede festgestellt werden. Erst später, d. h. wenn die Zellteilungstätigkeit eingestellt wird, beginnen sich die ersten Anzeichen von charakteristischen Wurzelanschwellungen zu zeigen (Levan 1938). Es hat sich aber herausgestellt, daß die ersten Teilungen nach Colchicinbehandlung zu gleicher Zeit wie bei der Kontrolle auftreten, so daß die große Anzahl gefundener Mitosen nicht allein auf die Arretierung der Metaphasen zurückgeführt werden kann. In der Kontrolle treten 1,54 % Metaphasen auf, beim Colchicin 31,16 %. Auch Prophasen sind mehr vorhanden als in der Kontrolle. Die Anzahl Zellen einer Wurzel der Kontrolle und der einer colchicinierten Pflanze wurde festgestellt. Sie ist aber praktisch gleich. Dies bedeutet, daß die Colchicinbehandlung bei der Keimung die Mitosetätigkeit fördert. Daß dies auch in Meristemen anderer Pflanzen der Fall ist, ist anzunehmen.

Ob die Zellteilungsintensität durch Colchicin verändert wird oder nicht, wurde früher bereits öfters, jedoch ohne Übereinstimmung der Resultate, untersucht. Ob es sich bei der Keimung um einen Spezialfall handelt, muß zuerst noch genauer untersucht werden. Ich möchte hier nur auf Arbeiten hinweisen, die von Krythe und Wellensiek (1954) referiert werden.

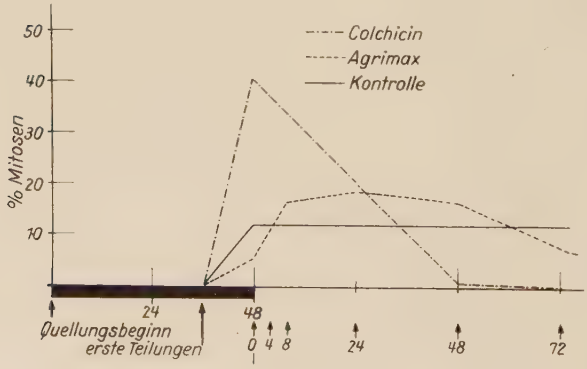
Die Mitosetätigkeit im Meristem der Keimwurzeln bleibt bei den Kontrollen während mindestens sechs Tagen konstant, dann sinkt sie jedoch all-

mählich etwas ab. Nach 48 Stunden finden wir bei Colchicinbehandlung nur noch Ruhekerne. Es ist bekannt, daß das Colchicin, in hohen Konzentrationen verwendet, einen langen Mitosestop verursachen kann; bei niederen Konzentrationen ist die Zeit bis zum Wiederbeginn der Teilungen bedeutend kürzer (D'AMATO 1952, KRYTHE und WELLENSIEK l. c.). In dieser Beziehung verhält sich das Agrimax anders. Die Mitosetätigkeit sinkt nach 72 Stunden unter die Werte der Kontrolle, aber ganz wird sie nicht unterbunden. Es sind immer wieder Zellteilungen zu beobachten. Die Zeit, die die Pflanze zur Erholung braucht, ist bedeutend kürzer. Nach 72 Stunden treten bereits wieder die ersten Anaphasen auf, d. h. die Spindelhemmung ist aufgehoben. Dies deutet darauf hin, daß die Pflanze wieder frei von Mitosegift ist oder daß die Konzentration unter die Wirkungsschwelle gesunken ist. Diese Beobachtungen können auch makroskopisch beobachtet werden. Die mit Agrimax behandelten Keimlinge wachsen rascher wieder aus als die colchicinierten. Nach vier Monaten überleben nur noch 5 % nach Colchicinbehandlung, während mehr als 50 % der Agrimaxpflanzen noch gut gedeihen.

Tabelle 2

Mitosetätigkeit nach Einwirkung von Agrimax M (A) und Colchicin (C). Anzahl der Mitosestadien in % bezogen auf das Total der untersuchten Zellen

48 Stunden Immersion anschl. Stunden nach Auswaschen	Total Mitosen		Prophasen		Metaphasen		Anaphasen		Telophasen		Ruhekerne	
	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C
0	5,46	40,68	3,73	9,52	1,73	31,16					94,54	59,32
4		36,63		7,52		29,11						63,37
8	16,30	33,48	9,20	6,43	6,94	27,05	0,10		0,06		83,70	66,52
24	18,39	20,86	8,24	5,22	10,15	15,59		0,06			81,61	79,13
48	16,64	0,97	7,88	0,09	8,76	0,88					83,36	99,03
72	7,78		1,96		5,82						99,22	
Kontrolle	11,93		8,51		1,54		0,67		1,21		88,07	



Verwendete Konzentration:

Für Agrimax M und Colchicin 0,075 %. Die verwendeten Samen wurden während 48 Stunden in diesen Lösungen gequollen, ausgewaschen und in den angegebenen Zeitabständen untersucht.

Darst. 1. Mitosetätigkeit nach Einwirkung von Agrimax und Colchicin.

Schwarze Zone: Einwirkungsdauer der Lösungen

3. Polyploidisierung

Am gleichen Material, das zur Ermittlung der Verschiebung der Zellteilungstätigkeit verwendet wurde, wurde auch der Vorgang der Polyploidisierung verfolgt. Pro Serie wurden von je zehn verschiedenen Pflanzen sämtliche Metaphasen des Wurzelmeristems aufgezeichnet und nachträglich an Hand der Zeichnungen ausgezählt. Die so erhaltenen Resultate sind in der Tabelle 3 zusammengefaßt.

Nur diejenigen Stadien wurden ausgezählt, deren Chromosomen bereits deutlich in die beiden Tochterchromosomen gespalten waren, aber noch am ungeteilten Centromer zusammenhingen. Die Teilung des Centromers erfolgt nach Agrimaxbehandlung nicht im ganzen Chromosomensatz einer Zelle gleichzeitig. Deshalb wurden diejenigen Stadien, wo die Teilung des Centromers bereits erfolgte, aber an den Tochterchromosomen noch keine Längsspaltung sichtbar war, zu der nächstniedrigeren Polyploidiestufe gezählt.

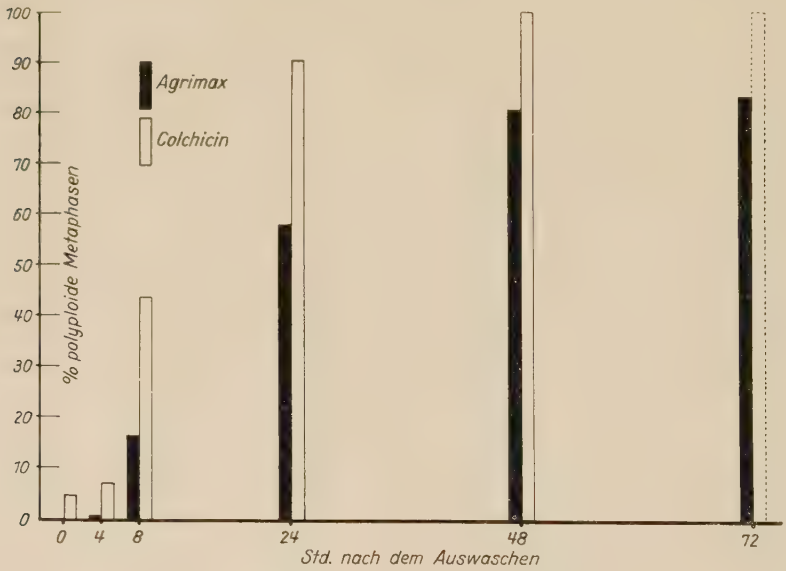
a) Agrimax: Der Großteil der Samen ist 48 Stunden nach Einlegen in 0,075 % Agrimaxlösung gekeimt. Stellt man sofort nach dem Auswaschen die erste Serie Quetschpräparate her, zeigt es sich, daß alle Metaphasen noch diploid sind, d. h. alle je sechs Chromosomen aufweisen. Die meisten Chromosomen sind bereits stark verkürzt. Schon vier Stunden später können vereinzelte tetraploide Zellen festgestellt werden. Eine merkliche Veränderung im Verhältnis diploider zu polyploiden Zellen tritt aber erst nach acht Stunden auf. Hier sind bereits 14,3 % Metaphasen polyploid, d. h. ein Teil der vor vier Stunden als diploid festgestellten Metaphasen ist stehengeblieben, während sich ihre Chromosomen bereits weiter geteilt haben. Deutlicher wird die Wirkung des Stoffes in Darst. 2 gezeigt. Nach 24 Stunden nimmt der Anteil tetraploider Zellen stark zu, dazu sind bereits einige octoploide Zellen in Erscheinung getreten. Durch Verlust eines oder mehrerer Chromosomen entstehen auch aneuploide Zellen, die später noch eingehend besprochen werden sollen. Die Anzahl polyploider Metaphasen übersteigt nach 72 Stunden 80 % um ein Bedeutendes. Octo- und höher polyploide Zellen treten häufig auf (Tab. 3, Darst. 2). In Abb. 1 bis 6 sind arretierte Metaphasen von $2n = 6$ bis $16 n = 48$ dargestellt.

b) Colchicin: Die erhaltenen Resultate nach Colchicinbehandlung sind in Tab. 3 und Darst. 2 zusammengestellt. Bereits nach Abschluß der 48stündigen Behandlung treten die ersten tetraploiden Zellen auf, während nur noch 85,6 % diploid sind. Nach vier und acht Stunden nimmt der Prozentsatz weiter ab. Wenige octoploide Zellen können auftreten, gehen aber oft in einen Ruhekern über. Nach 24 Stunden sind mehr als 1/5 der Metaphasen octoploid. Weitere 24 Stunden später können keine diploiden Metaphasen mehr festgestellt werden. Die meisten Ruhekerne sind extrem groß, vereinzelte Teilungen weisen mehr als 100 Chromosomen auf.

Tabelle 3

Auszählungen von Chromosomen in Metaphasen nach Agrimax- und nach Colchicinbehandlung

Serie (Stunden nach Auswaschen)	Anzahl ausgezählter Metaph.	Polyploide		2n = 6		4n = 12		8n = 24		16n = 48		Aneupl.	
		Anz.	%	Anz.	%	Anz.	%	Anz.	%	Anz.	%	Anz.	%
Agrimax M													
0	381	0	0	381	100								
4	413	0	0	413	100								
8	322	48	14,9	273	85.1	46	14,3	1	0,3			1	0,3
24	374	216	57,7	158	42,3	203	54,3	2	0,5			11	2,9
48	215	172	80,4	42	19,6	130	60,6	33	15,4	1	0,5	8	3,9
72	160	133	83,1	27	16,9	105	65,7	24	15,0	2	1,2	2	1,2
Colchicin													
0	3426	151	4,4	3275	95,6	151	4,4						
4	2085	253	12,1	1832	87,9	244	11,7	9	0,4				
8	1511	659	43,6	852	56,4	643	42,6	16	1,0				
24	756	723	95,6	33	4,4	557	73,6	159	21,1	6	0,8	1	0,1



Darst. 2. Verlauf der Polyploidisierung nach Agrimax- und Colchicinbehandlung

4. Ausfall von Chromosomen

Ganz speziell interessieren uns diejenigen Zellen, wo der Chromosomensatz nicht genau dem 2-, 4-, 8- oder 16fachen der haploiden Zahl 3 entspricht. Es stellt sich hier die gleiche Frage wie nach Einwirkung höherer Temperaturen auf Samen (BRUHIN 1950, 1951). Fallen nach Einwirkung von Chemikalien wie nach Hitzeeinwirkung bestimmte Chromosomen häufiger aus oder werden alle zufallsgemäß wie nach Bestrahlung mit Röntgenstrahlen betroffen? In

den Kontrollen von *Crepis capillaris* zeigt es sich, daß unter Tausenden von diploiden Zellen in ausmeßbaren Metaphasen nicht ein einziges Chromosom fehlt. Nach Behandlung mit Agrimax und Eintreten der ersten C-Mitose sind total 21 Fälle aufgetreten, wo statt 4 n = 12 Chromosomen, 16mal 11, 3mal nur 10 und 2mal nur 9 Chromosomen vorhanden sind. Die verlorengegangenen Chromosomen sind jeweils nach der ersten C-Mitose als undeutliche, schwach feulgenpositive Flecke im Plasma der Zellen noch zu erkennen (Tab. 4, Abb. 7 u. 8).

Bei Ausfall eines einzigen Chromosoms ist 3mal ein A-, 3mal ein D-, aber 10mal ein kleines C-Chromosom betroffen worden. In den Fällen, wo noch total zehn Chromosomen festgestellt werden können, sind in einem Falle zwei A- und in zwei Fällen je zwei C-Chromosomen zerstört worden. Ähnlich bei 4 n—3 = 9, wo einmal ein A- und zwei C-, im zweiten Fall ein D- und zwei C-Chromosomen fehlen. Nach der ersten C-Mitose sind demnach von total 23 als fehlend festgestellten Chromosomen fünf A-, 14 C- und vier D-Chromosomen ausgefallen.

Tabelle 4

Häufigkeit der Chromosomenausfälle

	1. C-Mitose			2. C-Mitose					3.C-Mitose
Normalfall 2n = 6	4n = 12			6n = 18		8n = 24			16n = 48
Aneuploide	9 = 4n — 3	10 = 4n — 2	11 = 4n — 1	17 = 6n — 1	18 = 6n	21 = 8n — 3	22 = 8n — 2	23 = 8n — 1	Total
Anzahl ausgewertete Zellen	2	3	16	1	2	1	4	3	30
Fehlende Chromosomen	1×1 A 2×2 C 1×1 D	1×2 A 2×2 C	3×1 A 10×1 C 3×1 D	1×1 C		1×3 C	2×1 A 1×1 C 1×2 C 1×1 D	3×1 C	
Häufigkeit der Ausfälle									
Chromosom A	1	1	3				2		7 (20,6%)
C	2	2	10	1		2	2	3	22 (64,7%)
D	1		3				1		5 (14,7%)

Daß bei Ablauf einer weiteren C-Mitose noch andere Ausfälle erfolgen können, zeigen die von der octoploiden Zahl 24 abweichenden Fälle (Abb. 9). Fehlt nach der zweiten Teilung mehr als ein homologes Chromosom, so läßt sich nicht eindeutig feststellen, wann der Verlust erfolgt ist. Ist in der ersten Teilung ein einziges Chromosom ausgefallen, so tritt dies als doppelter Verlust nach der zweiten Teilung in Erscheinung. Das fehlende Chromosom kann nicht verdoppelt werden. Obwohl die Möglichkeit besteht, daß zwei Chromosomen in der zweiten Teilung verlorengegangen sind, wurden solche Ausfälle laut Tab. 4 nur einmal bei der Bestimmung der Ausfallhäufigkeit gezählt. In einer anderen Zelle fehlen gleichzeitig drei C-Chromosomen. Auch hier

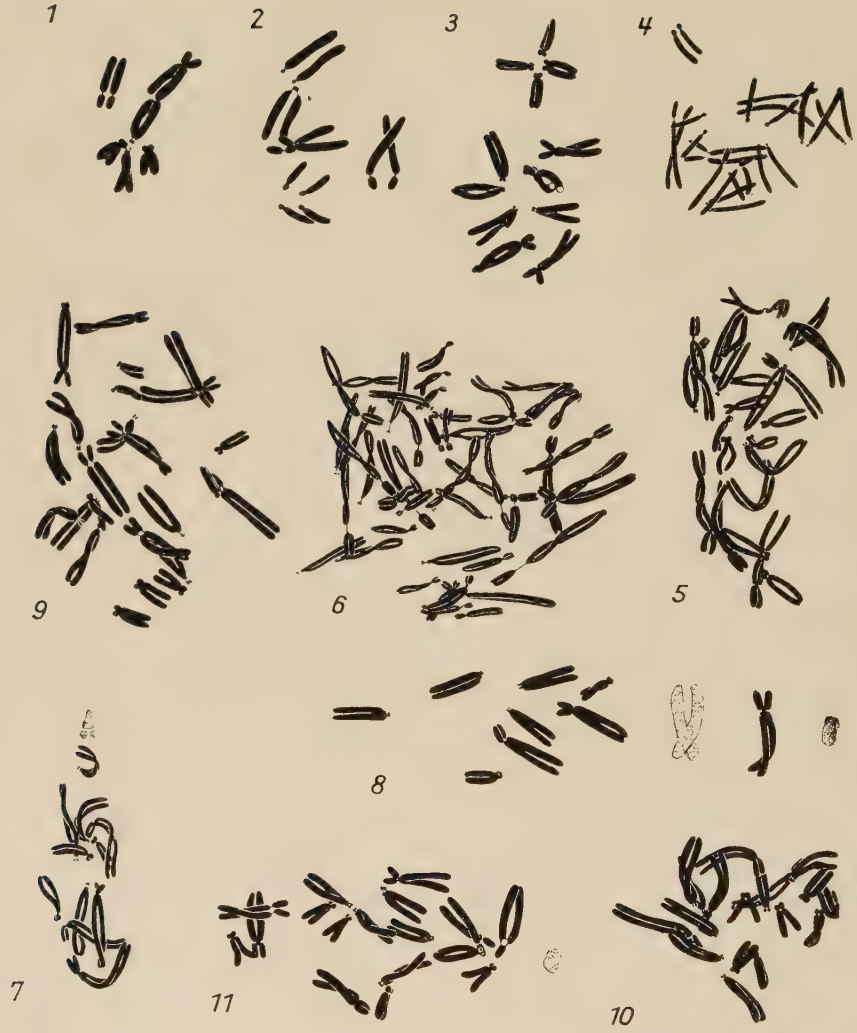


Abb. 1—11. Mitosen von *Crepis capillaris* nach Agrimax-M-Einwirkung:

1. $2n = 6$, diploide, arretierte Metaphase,
2. $2n = \frac{12}{2}$ „Metaphase" nach Teilung des Centromers,
3. $4n = 12$,
4. $4n = \frac{24}{2}$,
5. $8n = 24$,
6. $16n = 48$,
7. $4n-1 = 11$, ein C-Chromosom ist zerstört und nur noch schwach erkennbar,
8. $4n-3 = 9$, es fehlen zwei C- und ein A-Chromosom,
9. $8n-1 = 23$, es fehlt ein C-Chromosom,
10. $6n = 18$,
11. $6n-1 = 17$, ein C-Chromosom fehlt.

bestehen wieder zwei Möglichkeiten. Entweder sind alle drei Chromosomen in der zweiten C-Mitose ausgefallen oder eines in der ersten und eines in der zweiten. In der ersten Teilung können nicht zwei ausgefallen sein, da sonst nach der zweiten Mitose vier Chromosomen fehlen müßten. Für diesen Fall zählen wir nur zwei Ausfälle.

Besonders interessant sind Zellen mit 6 n = 18 Chromosomen. Man könnte ihre Entwicklung gleich deuten wie die der anderen aneuploiden Zellen. Wenn man aber bedenkt, daß dabei der ganze haploide Satz zweimal hätte ausfallen müssen, erkennt man, daß dies sehr unwahrscheinlich ist. Nach Einwirkung von Agrimax sind diese Fälle nicht allzu selten, doch oft sehr schwierig genau auszumessen, da die Chromosomen meistens in diesem Spezialfall sehr eng ineinander liegen. An Hand verschiedener Stadien, die beobachtet werden konnten, kann der Vorgang wie folgt interpretiert werden: Verschiedentlich treten trotz Spindelhemmung Anaphasen auf, jedoch nur sehr vereinzelt. Diese scheinen aber nicht normal zu verlaufen. Meistens verkürzen sich die Chromosen an einem Pol stärker, ohne daß sie in die Telophase übergehen können (Abb. 12). Eine Zellwandbildung unterbleibt. Die Chromosomen am anderen Pol können aber einen Ruhekern bilden. Die liegengebliebenen Chromosomen zeigen schon bald deutliche Längsteilung und vermitteln den Aspekt von Metaphasechromosomen. Es erfolgt eine normale C-Mitose, ohne daß der Ruhekern beeinflußt wird. Trotz Agrimaxeinwirkung können Ruhekerne normale Teilungen eingehen. Aus dem Ruhekern gehen nun sechs Chromosomen hervor. Die Mitose verläuft normal bis zur Metaphase und wird arretiert. Die sechs liegengebliebenen Chromosomen haben sich in der Zwischenzeit geteilt, und aus den zwölf Tochterchromosomen haben sich zwölf Metaphasechromosomen gebildet (Abb. 12 und Abb. 10). In einem Falle von 6 n—1 = 17 Chromosomen fehlt ein C-Chromosom. Es ist noch schwach feulgenpositiv (Abb. 11).

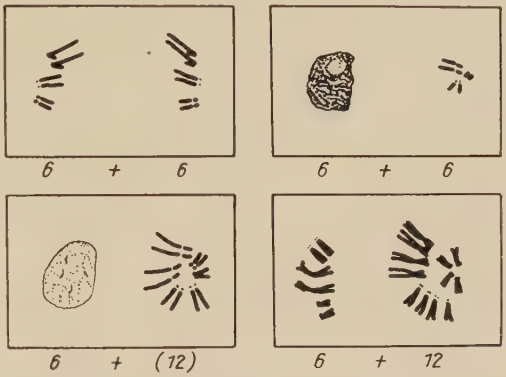


Abb. 12. Schematische Darstellung der Entstehung hexaploider Zellen.

Anaphase. Nur auf einer Seite kann ein Ruhekern gebildet werden. Die liegengebliebenen Chromosomen teilen sich (C-Mitose). Der Ruhekern in der Zelle geht eine neue Teilung ein (Metaphase), die liegengebliebenen Chromosomen befinden sich im gleichen Stadium

Oestergren (1954) erhält nach Behandlung von Zygoten von *Crepis capillaris* mit N_2O Nachkommen mit normal diploiden, tetraploiden, aber auch solche mit triploiden Chromosomensätzen. Er geht von der diploiden Zygote aus. Das Zustandekommen von Triploidie und Aneuploidie wird wie

folgt erklärt: Die ursprünglich diploide Zygotenzelle macht eine Mitose mit multipolarer Spindel durch. Aus ihr entsteht durch unregelmäßige Verteilung der Chromosomen auf zwei Tochterzellen eine triploide und eine haploide Zelle, worauf sich die erste weiterteilt und den Embryo liefert. Es kann vorkommen, daß unter der Einwirkung von Chemikalien tripolare, eventuell sogar tetrapolare Spindeln entstehen. Solche Zellen sterben aber meistens ab, ohne lebensfähige Tochterzellen bilden zu können (BRUHIN und WANNER 1954). Da keine Angaben gemacht wurden, ob tatsächlich zytologische Untersuchungen durchgeführt wurden, die diese Hypothese stützen könnten, ist auch eine andere Erklärungsmöglichkeit zu berücksichtigen. OESTERGREN versuchte mit der Einwirkung von N_2O die erste Teilung der Zygote zu treffen. Dazu mußte er die Zeit von der Bestäubung bis zur ersten Teilung der Zygote bestimmen. Diese Zeit ist aber bei *C. capillaris* oft sehr stark verschieden und von äußeren Bedingungen abhängig. Zudem weisen nicht alle Blüten des Köpfchens die gleichen Entwicklungsstadien auf. Während am Körbchenrand die Anthese einsetzt, erfolgt oft im Innern erst die Differenzierung des Embryosackes. Es ist wahrscheinlich, daß bei Einwirkung des Gases eine noch nicht befruchtete haploide Eizelle getroffen wurde. Unter der Wirkung von bestimmten Substanzen können Ruhekerne Teilungen eingehen, die sonst nicht stattfinden würden. Diese polyploidisierte, nun diploide Eizelle wurde befruchtet, und es bildete sich eine triploide Zygote.

Fassen wir nun alle Chromosomenausfälle zusammen, so stellen wir fest: Von total 34 eindeutig feststellbaren Fällen sind 7mal ein A-, 5mal ein D- und 22mal ein C-Chromosom ausgefallen. Bei Zerstörung oder Treffer im Centromer sollten alle drei Chromosomen mit gleicher Häufigkeit ausfallen. In Prozenten ergibt sich das Folgende:

Ausfall theoretisch:		Ausfall mit Agrimax M:
33,3 %	Chromosom A	20,6 %
33,3 %	Chromosom D	14,7 %
33,3 %	Chromosom C	64,7 %

Bereits früher machten wir nach Temperaturbehandlung von *Crepis aurea* auf eine ähnliche Erscheinung aufmerksam (BRUHIN 1950, 1951). Nach Einwirkung von Dimetan auf die Mitose von *Vicia faba* wurde vermehrt das Satellitenchromosom durch Brüche und Verlust des Satelliten betroffen (BRUHIN und WANNER 1954). KIHLMAN und LEVAN (1951) machten die gleiche Beobachtung an *Vicia faba* nach Einwirkung von 8-Äthoxycoffein.

Es scheint, daß durch Hitze und Chemikalien möglicherweise schwache oder empfindliche Stellen an Chromosomen getroffen und geschädigt werden. Daß solche Erscheinungen nicht schon früher und häufiger beobachtet wurden, glaube ich der Wahl der Objekte zuschreiben zu können. Es ist sehr schwierig, in Chromosomensätzen, sogar in unbehandelten Pflanzenzellen, wo Chromosomen oft nur Längendifferenzen von 1 bis 2 μ aufweisen, Veränderungen festzustellen und die homologen Chromosomen auseinanderzuhalten. Durch Verkürzungen der Chromosomen werden die Größendifferenzen noch kleiner,

so daß nur deutliche morphologische Unterschiede eine genaue Erkennung ermöglichen. Wenn uns ein Objekt zur Verfügung steht, das in Handhabung und Präparation nicht die geringsten Schwierigkeiten bereitet, sollte es für solche Zwecke mehr verwendet werden.

5. Verwendung in der Praxis

In der Praxis soll das Beizmittel nach Anweisung der Hersteller folgendermaßen zur Verwendung kommen: In eine Mischtrommel wird je Kilogramm Samenmaterial 2 g Agrimax gegeben und sorgfältig gemischt. Das Saatgut kann sofort ausgesät oder unbeschränkt aufbewahrt werden. Das Pulver bleibt mehr oder weniger gut an der Samenoberfläche, je nach ihrer Beschaffenheit, haften. Es gelangt mit den Samen bei der Aussaat in den Boden. Bei Regen oder feuchtem Boden wird es gelöst und dringt mit dem Quellungswasser in die Samen ein. Bei der Quellung nehmen z. B. Weizenkörner etwas mehr als diejenige Menge Wasser auf, die der Hälfte ihres Luft-Trockengewichtes entspricht. Ist im Boden je Kilogramm Saatgut ein Liter Wasser vorhanden, was für die Quellung genügt, so entsteht eine Lösung von 0,2 %. An der Samenoberfläche kann die Konzentration aber noch größer sein. Bei stärkerer Verdünnung oder bei teilweisem Verlust des Beizmittels durch Wegschwemmen kann doch noch eine genügend konzentrierte Lösung auf die Samen einwirken und unerwünschte Störungen und Schädigungen verursachen.

Die zum Teil durchgeführten Keimteste allein genügen nicht, um die Schädlichkeit des Mittels aufzuzeigen. Auch bei Colchicinierung von Samen keimen praktisch alle normal. Die Hemmungen im Wachstum treten erst später ein. Es wurde zwar bereits darauf hingewiesen, daß nach Agrimaxbehandlung mehr Pflanzen überleben können als nach Behandlung mit Colchicin. Trotzdem ist es notwendig, die Nachkommenschaft behandelter Pflanzen zu untersuchen, da durch Polyploidie und Aneuploidie die normale Fertilität herabgesetzt oder der Fruchtansatz ganz unterbunden werden kann.

Zusammenfassung

1. Nach Immersion von Samen von *Crepis capillaris* in Lösungen des Samenbeizmittels Agrimax M (Phenyl-Hg-Dinaphthylmethandisulfonat) wird der Spindelapparat der Mitosen im Wurzelmeristem inaktiviert. Die Zellen werden polyploidisiert.
2. Die Wirkung wird mit der des Colchicins verglichen. Das Agrimax scheint weniger giftig zu sein, da mehr behandelte Pflanzen überleben.
3. Die Bildung hexaploider Zellen wird beschrieben und gedeutet.
4. Neben normal polyploiden Zellen treten auch aneuploide auf. Die Ausfallhäufigkeit der drei Chromosomen wird festgestellt: Das C-Chromosom fällt bedeutend häufiger aus als die beiden anderen.
5. Es wird auf die Schädigungsgefahr bei Anwendung in der Praxis hingewiesen.

Literaturverzeichnis

Babcock, E. B., 1947: The Genus *Crepis*, Univ. Calif. Publ. in Bot.

Bruhin, A., 1950: Beiträge zur Cytologie und Genetik schweizerischer *Crepis*-Arten III. Untersuchungen über Abnahme der Fertilität und Zunahme abnormaler Formen und Mutationen mit zunehmender Höhe der natürlichen Standorte. Arb. a. d. Inst. f. allg. Bot., Univ. Zürich, Serie B, No. 1.

— —, 1951: Auslösung von Mutationen in ruhenden Samen durch hohe Temperaturen. Naturw. **38**, 565.

— — und Wanner, H., 1954: Über die Wirkung von Insektiziden auf die Mitose von Pflanzen. Phytopath. Z. **22**, 327.

d'Amato, F., 1950: The Quantitative Study of Mitotic Poisons by the *Allium Cepa* Test: Data and Problems. Protoplasma **39**, 423.

Erlanson Macfarlane, E. W., 1954: Some Phenyl Mercurials as Polyploidogenic and Radiomimetic Agents for Plants, Compared with Colchicine, with Remarks on Antagonism. Rapp. et Communic. du 8. Congr. int. Paris, Sect. 9/10, 14.

Goldberg, A. A., 1950: Chim. et Industr. **64**, Sept., 11.

— —, Shapero, M. and Wilder, E., 1950 a: Antibacterial Colloidal Electrolytes: The Potentiation of the Activities of Mercuric-, Phenylmercuric- and Silver Ions by a Colloidal Sulphonic Anion. J. Pharm. Pharmacol. **2**, 20.

— —, — —, 1950 b: The Penetration of Phenylmercuric Dinaphthyl-Methane Disulfonate into Skin and Muscle Tissue. J. Pharm. Pharmacol. **2**, 89.

Hopf, P. P., Lhoste, J. and Ravault, L., 1951: A New Mercurial with Apparent Systemic Properties as a Seed Dressing. J. Sc. of Food and Agricult. **7**, 295.

— — and Race, E., 1949: Industr. Engng. Chem., **41**, 820.

Ketol A. G. Zürich, 1951: Agrimaxprodukte für bessere Ernten.

Kostoff, D., 1939: Effect of the Fungicide „Granosan" on Atypical Growth and Chromosome Doubling in Plants, Nature **144**, 334.

— —, 1940: Atypical Growth, Abnormal Mitosis and Polyploidy Induced by Ethyl-Mercury-Chloride, Phytopath. Z. **13**, 91.

Krythe, J. M. and Wellensiek, S. J., 1952: Five Years of Colchicine Research, Bibliogr. Genetica XIV, 1.

Kihlman, B. and Levan, A., 1951: Localized Chromosome Breakage in *Vicia faba*. Hereditas **37**, 382.

Levan, A., 1938: The Effect of Colchicine on Root Mitosis in *Allium*. Hereditas **24**, 471.

Oestergren, G., 1954: Polyploids and Aneuploids of *Crepis Capillaris* Produced by Treatment with Nitrous Oxide. Genetica **XXVII**, 54.

Sass, J., 1937: Histological and Cytological Studies of Ethyl Mercury Phosphate Poisoning in Corn Seedlings. Phytopathology **27**, 95.

— —, 1938: Abnormal Mitosis in Seedlings of some Gramineae Following Seed Treatment. Amer. J. Bot. **25**, 624.

Aus dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule und der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Braunschweig

Synergistische und antagonistische Wirkung von Pilzen und Bakterien auf die Sporenkeimung verschiedener *Tilletia*-Arten

Von

G. Gassner † und E. Niemann

Mit 10 Abbildungen

I. Einleitung

Über eine Beeinflussung phytopathogener Pilze durch andere Mikroorganismen liegen bereits zahlreiche experimentelle Untersuchungen vor (21). Die Brandpilze wurden hierbei allerdings bisher nur in zwei Arbeiten von Bamberg (1) und Johnson (19) berücksichtigt, in denen eine antagonistische Wirkung verschiedener Bakterienstämme auf die Sporenkeimung und weitere Entwicklung von *Ustilago zeae* und anderen Brandpilzen (u. a. *Tilletia tritici*) nachgewiesen werden konnte.

Daß die Bakterienflora des Keimsubstrates die Sporenkeimung von *Tilletia tritici* beeinflussen kann, vermuteten bereits Hahne (15) und Rabien (28). Auch Gassner-Höchst (12) mißt der am Licht aktivierten grünen Bodenflora des als Keimsubstrat verwendeten Schlämmbodens einen maßgeblichen Anteil bei der Keimungsauslösung der Zwergsteinbrandsporen bei.

In unseren Untersuchungen über die Sporenkeimung verschiedener *Tilletia*-Arten (9, 11) ergaben sich gleichfalls mehrfach Hinweise, daß die Mikroflora des Keimsubstrates ein wichtiger Faktor für den Verlauf der Sporenkeimung ist. So konnte z. B. wiederholt beobachtet werden, daß auf Sporenausstrichen eine fleckenweise geförderte (Abb. 1) oder gehemmte (Abb. 2) Keimung auftrat. Es lag nahe, hierbei an eine keimungsbeeinflussende Wirkung durch Bodenorganismen zu denken. Über die weiteren Untersuchungen zu dieser Frage wird im folgenden berichtet.

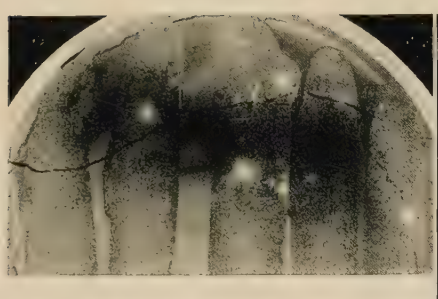


Abb. 1. Fleckenweise gefördert e Keimung in einem Sporenausstrich des Roggensteinbrandes auf normalem Schlämmboden. Aufstellung 27 Tage bei 5° C bei schwacher künstlicher Belichtung

Die in den Jahren 1952/53 durchgeführten Untersuchungen wurden aus Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft finanziert, der wir hierfür unseren Dank sagen.

Abb. 2. Fleckenweise gehemmte Keimung in einem Sporenausstrich des Zwergsteinbrandes auf normalem Schlämmboden. Aufstellung 57 Tage bei 5°C unter künstlicher Belichtung

II. Material und Methodik

Bei den untersuchten Steinbrandarten — dem gewöhnlichen Steinbrand (*Tilletia tritici* [Bjerk.] Wint. = *T. caries* Tul.), Zwergsteinbrand (*Tilletia brevifaciens* Fischer = *T. tritici nanifica* Wagner) und Roggensteinbrand (*Tilletia secalis* Kcke. = *T. tritici* f. sp. *secalis* Pichler) — handelt es sich um die gleichen Herkünfte, die auch in unseren früheren Untersuchungen (9, 11) über die Sporenkeimung verwendet wurden.

Die Sporen wurden nach Zerreiben der Brandbutten durch Absieben gewonnen; sie waren daher nicht frei von Fremdkeimen. Gewinnung von keimfreien Brandsporen, sei es durch äußerliches Sterilisieren der Brandbutten (Sublimat, Alkohol, Abflammen) vor dem Auskratzen der Sporen, sei es durch Einbringen der Sporen in Chloroform, wie es KEHL (20) für andere Pilzsporen anwandte, erwies sich als undurchführbar, da die Keimfähigkeit der Sporen hierdurch zum Teil beeinträchtigt wurde und außerdem auch auf diesem Wege Keimfreiheit nicht in allen Fällen mit Sicherheit zu erreichen war. Die Entwicklung von Fremdorganismen in den Sporenausstrichen ließ sich jedoch durch andere Mittel, wie Wahl eines geeigneten Keimsubstrates, Aufstellung der Keimschalen bei möglichst tiefen Temperaturen oder teilweises Eintrocknen der Nährböden soweit einschränken, daß sie sich nicht störend bemerkbar machte.

Für die Keimversuche wurden die Sporen mit Wasser angerührt und mittels eines Pinsels auf die verschiedenen, in Petrischalen ausgegossenen Substrate aufgestrichen.

Die Aufstellung der Keimschalen erfolgte in Kühlräumen bei Temperaturen von 2°, 5° oder 15°C entweder in relativer Dunkelheit (jeweils bei den Ablesungen wurden die Versuche kurze Zeit belichtet), in absoluter Dunkelheit oder bei künstlicher Belichtung (Leuchtstoffröhren).

Etwa alle zehn Tage wurden die Versuche abgelesen, wobei die Stärke der Keimung bzw. Sporidienbildung mit Keimzahlen von 0 bis 4 bonitiert wurde:

0 = keine Keimung;
0,1 = weniger als 10 Sporen je Petrischale (9 cm ⌀) gekeimt;
0,2 = etwa 5 Sporen im Gesichtsfeld (21 mm²) gekeimt;
0,5 = etwa 20 Sporen im Gesichtsfeld gekeimt;
0,7 = etwa 50 Sporen im Gesichtsfeld gekeimt;
1 = Keimung makroskopisch eben als schwachgrauer Schimmer zu erkennen, etwa 200 Sporen im Gesichtsfeld gekeimt;
2 = makroskopisches Aussehen der Ausstriche deutlich grau;
3 = makroskopisches Aussehen der Ausstriche weißgrau;
4 = makroskopisches Aussehen der Ausstriche rein weiß, dicht filzig, zwischen den Sporidien keine Sporen mehr zu erkennen.

Zwischenstufen wurden mit 0,3; 0,4; 0,6; 0,8; 0,9 bzw. 1,5; 2,5; 3,5 bezeichnet.

Bei der Auswertung der Versuche wurde von uns immer die Stärke der Sporidienbildung als ein sekundärer, der eigentlichen Keimung folgender Vorgang bonitiert, weil sich bei der verwendeten Methodik die Keimung selbst (Hervortreten des Promyzels) nicht sicher erfassen ließ. Da für die Steinbrandinfektion die Bildung von Sporidien bzw. deren Fusionen Voraussetzung ist (5, 7, 17), erscheint diese Art der Ablesung vertretbar. Es mußte allerdings dabei in Kauf genommen werden, daß sich so nicht entscheiden ließ, welcher von beiden Vorgängen — Hervortreten der Promyzels oder Bildung der Sporidien — jeweils durch die Mikroorganismen beeinflußt wurde.

Folgende Keimsubstrate kamen zur Verwendung

a) Wasseragar (4 %).

b) Agar (4 %) aus Kartoffeldekokt: Ein Teil geschälte, zerschnittene Kartoffeln mit zehn Teilen Wasser eine Stunde kochen, Abgießen des Dekoktes. pH — 6.

c) Fleischextrakt-Agar: 1000 ccm Aqua Dest., 40 g Agar, 4 g Pepton, 5 g Glukose, 4 g Liebigs Fleischextrakt. pH — 6,5.

d) Agar (4 %) aus Pferdemistdekokt[1]): Frischen Pferdemist mit vier Teilen Wasser eine Stunde kochen, Abgießen des Dekoktes. pH — 6,5.

e) Normaler Schlämmboden: Abschlämmen lehmiger Ackererde; Ausgießen in Petrischalen; Trocknen im Warmluftstrom.

f) Sterilisierter Schlämmboden: Keimschalen mit Schlämmboden normaler Feuchtigkeit (vgl. S. 398) wurden durch fünfmaliges Erhitzen (je zwei Stunden) im strömenden Wasserdampf sterilisiert. Vorher und nachher wurden diese Schalen gewogen. Schalen, die beim Sterilisieren an Gewicht verloren hatten, wurden mit sterilem Wasser auf das Ausgangsgewicht aufgefüllt; zu schwere Schalen wurden verworfen.

Die Sporenkeimung der untersuchten Steinbrandarten wird durch den Feuchtigkeitsgrad des als Keimsubstrat verwendeten Schlämmbodens beeinflußt. Um einen Überblick zu gewinnen, wie stark der Schlämmboden jeweils eingetrocknet werden mußte, damit optimale Keimung gewährleistet war, wurden Keimversuche auf Schlämmboden verschiedener Feuchtigkeit durchgeführt.

[1]) Auf diesem Substrat wurden in Roggensteinbrand- und Zwergsteinbrandausstrichen mehrfach neben normalen Sporidien die von Holton (17) beschriebenen bläschenförmigen Sporidien beobachtet. Ähnliche Keimungsformen fand bereits Hahne (15) bei *T. tritici*, wenn er die Sporen in konzentriertes Mistdekokt einbrachte.

Tabelle 1

Keimung von Steinbrandsporen auf normalem Schlämmboden verschiedener Feuchtigkeit

Bei Zwerg- und Roggensteinbrand je zwei Parallelversuche. Aufstellung bei künstlicher Belichtung ~ 500 Lux. Wassergehalt im Schlämmboden durch Trocknung bei 105° C bestimmt. Sporenherkunft 1952

Schlämmboden		Gewöhnlicher Steinbrand		Roggen-Steinbrand	Zwerg-Steinbrand
		Aufstellung bei:			
% Feuchtigkeit	Aussehen	15° C	5° C	5° C	5° C
		Keimzahl nach Tagen:			
		4	17	47	54
25 sehr feucht	Schlämmboden mit glänzendem Wasserfilm; leicht mit dem Finger einzudrücken, klebend	1	2,5	0,7/1	0,5/0,9
23,5 feucht	Schlämmboden noch glänzend, leicht einzudrücken, am Finger klebend	2	3	1,5/2	0,9/1
21 normal	Schlämmboden matt, beginnt einzureißen, hinterläßt beim Eindrücken noch Abdruck der Fingerlinien	3	3	2/2	1/**1,5**
17,5 trocken	stark eingerissen; nur noch schwer mit dem Finger einzudrücken, hinterläßt dabei keinen Fingerlinienabdruck mehr	3	**4**	2/**2,5**	0,7/0,8
13 sehr trocken	Schlämmboden stark eingerissen, im Farbton aufgehellt; nicht mehr mit dem Finger einzudrücken	**3,5**	**4**	2/**2,5**	0/0,5

Aus der Tabelle 1 ist zu entnehmen, daß gewöhnlicher Steinbrand und Roggensteinbrand auf einem verhältnismäßig trockenen Schlämmboden am besten keimten, während der Zwergsteinbrand anscheinend durch einen Schlämmboden mittlerer Feuchtigkeit begünstigt wurde. Zu feuchte Böden wirkten in allen Fällen hemmend.

Das sicherste Merkmal für die Herstellung von Schlämmböden optimaler Feuchtigkeit war, da der hierfür erforderliche prozentuale Wassergehalt je nach Herkunft des Bodens (Wasserkapazität) unterschiedlich war, das Aussehen des Bodens, vor allem seine Festigkeit. Diese ließ sich am einfachsten durch Eindrücken mit dem Finger feststellen. Ein als normal feucht zu bezeichnender Schlämmboden, wie er allgemein für unsere Versuche verwendet wurde, ließ sich noch mit dem Finger eindrücken, ohne zu kleben. Im Schlämmboden hinterblieb dabei ein deutlicher Fingerlinien-Abdruck. Das Aussehen war matt, nicht mehr glänzend, im Farbton noch nicht aufgehellt. Im allgemeinen begann der Boden bereits einzureißen.

Ein nennenswertes Eintrocknen der Böden während der meistens viele Wochen laufenden Keimversuche mit Zwerg- oder Roggensteinbrand wurde nicht festgestellt, da die Schalen in Kühlräumen mit hoher Luftfeuchtigkeit aufgestellt waren[1]). Bei belichtet

[1]) Der tägliche Wasserverlust der Petrischalen mit Schlämmboden betrug bei einer Temperatur von + 4° C im Mittel 0,05 g.

aufgestellten Versuchen wurde eine örtliche Erwärmung und stärkere Verdunstung unter den Leuchtstoffröhren durch dauernde Luftumwälzung im Kühlraum verhindert.

Die isolierten, synergistisch oder antagonistisch wirksamen Pilzstämme wurden auf Biomalz-Agar oder Czapek-Dox-Agar (Janke 18), Bakterien auf einem Agar aus Liebigs Fleischextrakt (vgl. S. 397) kultiviert.

III. Sporenkeimung auf sterilisiertem Schlämmboden

1. Gewöhnlicher Steinbrand

Die Verwendung von normalem Schlämmboden als Keimsubstrat erwies sich in allen unseren bisherigen Untersuchungen (9, 11) als besonders geeignet für Keimungsuntersuchungen an Steinbrandsporen. Gegenüber künstlichen Keimmedien mit Agarzusatz zeichnet er sich durch eine reiche Bodenflora aus und bietet den Sporen dadurch ähnliche Verhältnisse wie der natürliche Boden.

Um zu prüfen, wieweit eine Beeinflussung der Sporenkeimung des gewöhnlichen Steinbrandes durch die Mikroflora eines solchen Bodens möglich ist, wurden Keimversuche auf drei verschiedenen Schlämmböden durchgeführt: a) normaler Schlämmboden, b) sterilisierter Schlämmboden, c) sterilisierter und anschließend wieder mit etwas Erdextrakt (aus Schlämmbodenerde) reinfizierter Schlämmboden.

Die Schalen wurden, um eine Entwicklung der mit dem Erdextrakt zugesetzten Keime zu ermöglichen, 17 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt; erst dann wurden Steinbrandsporen aufgestrichen. Die weitere Aufstellung erfolgte bei 12° C in relativer Dunkelheit.

Das Ergebnis dieses Versuches zeigt Abb. 3. Auf dem normalen Schlämmboden (a) war nach acht Tagen eine Keimung der Keimzahl 3 zu verzeichnen, auf dem sterilisierten[1]) Schlämmboden (b) nur sehr geringe Keimung mit Keimzahlen von 0,5. Die Keimung auf dem wieder infizierten Boden (c) lag zwischen 3 und 4, war also noch etwas stärker als auf normalem Schlämmboden.

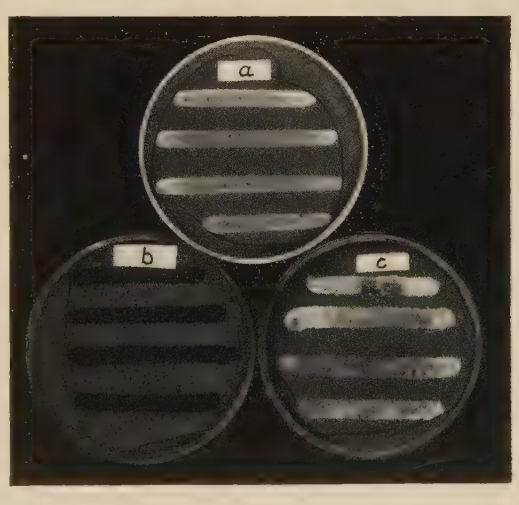


Abb. 3. Keimung des gewöhnlichen Steinbrandes. Sporenherkunft 1950.

a) auf normalem Schlämmboden

b) auf warmsterilisiertem Schlämmboden

c) auf warmsterilisiertem Schlämmboden, der anschließend wieder mit Erdextrakt infiziert wurde

[1]) Die Sterilität des Bodens blieb nicht erhalten, da die ausgestrichenen Brandsporen nicht steril waren.

Dieses Ergebnis wurde auch in Wiederholungsversuchen mit anderen Steinbrandherkünften erhalten, wobei allerdings das Ausmaß der Hemmung auf dem sterilisierten bzw. der Förderung auf dem wieder infizierten Schlämmboden je nach den Versuchsbedingungen unterschiedlich war. Wenn die Versuchsschalen bei 20 ° C aufgestellt wurden, so war die Keimung auf allen drei Schlämmböden geringer als in den entsprechenden Versuchen bei 12 ° C. Nach Aufstellung bei 5 ° statt bei 12 ° C waren zumeist keine oder doch nur geringe Keimungsunterschiede auf den drei Schlämmböden vorhanden.

Die unterschiedliche Keimung auf den verschieden behandelten Schlämmböden trat besonders deutlich hervor, wenn die Böden nicht zu trocken waren, also normalen Feuchtigkeitsgehalt aufwiesen. Es wurde daher hier und auch bei den im nächsten Abschnitt wiedergegebenen Versuchen mit Zwerg- und Roggensteinbrand vor allem darauf geachtet, daß alle Schalen nach dem Sterilisieren bzw. Reinfizieren wieder einen gleichen Feuchtigkeitsgehalt hatten wie die Kontrollschalen.

Keimversuche, bei denen der Fremdkeimgehalt in den Sporenausstrichen durch eintägiges Einbringen der Sporen in Chloroform herabgesetzt wurde, brachten die gleichen Ergebnisse wie die oben beschriebenen Versuche mit unbehandelten Brandsporen: Hemmung auf sterilisiertem, gute Keimung auf wieder infiziertem Schlämmboden. Wurden die Brandsporen aus äußerlich sterilisierten Brandbutten (Tauchen in Alkohol und Abflammen) durch Auskratzen mit einer sterilen Nadel gewonnen, so war die Keimfähigkeit auf allen drei Schlämmböden zwar stark beeinträchtigt, doch waren auch hier in gleicher Richtung liegende Keimungsunterschiede wie bei Verwendung normaler, durch Ausreiben gewonnener Sporen zu erkennen.

2. Zwergsteinbrand und Roggensteinbrand

In entsprechender Weise wie mit gewöhnlichem Steinbrand wurden bei relativer Dunkelheit Keimversuche mit Sporen des Zwergsteinbrandes und des Roggensteinbrandes auf sterilisiertem bzw. sterilisiertem und wieder infiziertem Schlämmboden durchgeführt. Das Ergebnis war überraschend (Tabelle 2).

Beim Zwergsteinbrand war — ähnlich wie beim gewöhnlichen Steinbrand — auf dem sterilisierten Schlämmboden eine Keimungshemmung bzw. -verzögerung, auf dem wieder infizierten Schlämmboden eine deutliche Förderung zu verzeichnen. Da die Versuche bei relativer Dunkelheit durchgeführt wurden, so daß die Sporenkeimung nur gering war, waren diese Unterschiede allerdings nicht so ausgeprägt wie in den Versuchen mit gewöhnlichem Steinbrand. Eine gehemmte Keimung der Zwergsteinbrandsporen auf sterilisierten Schlämmböden wurde auch von GASSNER-Höchst (12) bei seinen unter künstlicher Belichtung aufgestellten Versuchen beobachtet.

Tabelle 2

Keimung von Zwergsteinbrand- und Roggensteinbrandsporen auf sterilisiertem Schlämmboden

Sporenherkunft 1952. Aufstellung der Keimschalen bei 5° C in relativer Dunkelheit. Keimschalen mit 1 ccm Erdextrakt oder sterilem Wasser versetzt, dann vor dem Ausstreichen der Sporen drei Wochen bei Zimmertemperatur stehengelassen

Sporen	Schlämmboden	Keimzahl nach Tagen		
		57	83	103
Zwergsteinbrand	normal + Erdextrakt	0,4	0,2	0,3
	sterilisiert + Erdextrakt (reinfiziert)	0,9	1	1
	normal + steriles Wasser	0,4	0,3	0,4
	sterilisiert + steriles Wasser	0	0	0,4
Roggensteinbrand	normal + Erdextrakt	0,5	—	—
	sterilisiert + Erdextrakt (reinfiziert)	1	—	—
	normal + steriles Wasser	0,6	—	—
	sterilisiert + steriles Wasser	1,5	—	—

Roggensteinbrandsporen zeigten ein völlig anderes Verhalten, denn hier erfolgte gerade auf dem sterilisierten Boden eine besonders starke Keimung. Diese Keimungsförderung der Roggensteinbrandsporen konnte in vielfachen Wiederholungen in jedem Fall wieder erreicht werden; ja, sie war zumeist noch stärker als in dem hier wiedergegebenen Versuch, da auf sterilisiertem Schlämmboden (in relativer Dunkelheit) oft Keimzahlen von 3 — gegenüber 0,5 auf normalem Schlämmboden — erzielt wurden. Die Sporidienbildung des Roggensteinbrandes war dabei derart stark, daß diese Methode von uns zur Anzucht von Sporidien für Infektionsversuche verwendet werden konnte (10).

Einen Eindruck von der Keimung der Roggensteinbrandsporen auf sterilisiertem Schlämmboden vermittelt die Abb. 4. Bei diesem Versuch wurde nach dem Sterilisieren die eine Hälfte des Schlämmbodens aus der Petrischale entfernt und durch ein passendes Stück normalen Schlämmbodens ersetzt. Anschließend wurden auf beiden Hälften Roggensteinbrandsporen ausgestrichen und die Keimschalen dann bei 5° C in relativer Dunkelheit aufgestellt. Durch diese Methode war sichergestellt, daß beide Sporenausstriche unter vollkommen gleichen äußeren Bedingungen standen (Sauerstoffversorgung, Temperatur), so daß Unterschiede in der Keimung nur durch den Schlämmboden bedingt sein konnten. Auf der Hälfte mit sterilisiertem Boden war nach 29 Tagen eine Keimzahl 2 erreicht, auf dem normalen Boden hingegen nur die Keimzahl 0,6.

Bei diesem Demonstrationsversuch wurde durch das Einbringen des nicht sterilisierten Bodens in die eine Schalenhälfte die Sterilität des Schlämmbodens

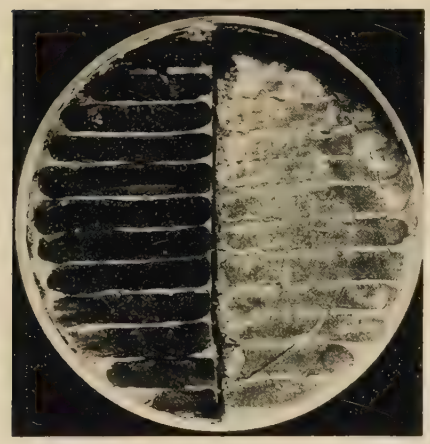


Abb. 4. Sporenkeimung des Roggensteinbrandes in relativer Dunkelheit. Sporenherkunft 1952.
Linke Schalenhälfte: normaler Schlämmboden
Rechte Schalenhälfte: Schlämmboden warm sterilisiert

in der anderen Hälfte aufgehoben. Es war demnach nicht erforderlich, daß die Sterilität auch nach dem Ausstreichen der Sporen noch voll erhalten blieb; schon die durch das Sterilisieren im Schlämmboden hervorgerufenen Veränderungen genügten, um eine Keimungsförderung der Steinbrandsporen zu bewirken.

Die bisher beschriebenen Versuche mit Roggensteinbrandsporen wurden bei relativer Dunkelheit durchgeführt. Ein weiterer Versuch wurde angelegt, um festzustellen, ob auch bei absoluter Dunkelheit und bei Belichtung die Sporenkeimung auf sterilisiertem Schlämmboden in gleicher Weise gefördert war (Tabelle 3).

Sowohl am Licht wie bei absoluter Dunkelheit übte der sterilisierte Schlämmboden eine fördernde Wirkung aus. Am Licht trat dies allerdings etwas weniger in Erscheinung, da hier auch auf dem normalen Schlämmboden die Keimung mit Keimzahlen von 3,5 schon fast optimal war, für eine noch weitergehende Förderung also nur wenig Spielraum blieb.

Bei absoluter Dunkelheit ergab sich ein Verhältnis der Keimzahlen auf sterilisiertem und normalem Schlämmboden von 1 : 0,3 (Versuch nach 22 Tagen abgebrochen) bzw. 1,5 : 0,4 (Versuch nach 38 Tagen abgebrochen). Als Hauptergebnis dieser Versuchsreihe ist daher festzustellen, daß die Sporenkeimung des Roggensteinbrandes, die normalerweise zu ihrer Auslösung einer Belichtung bedarf (9), bei Verwendung von sterilisiertem Schlämmboden auch bei absoluter Dunkelheit zu erreichen ist.

Tabelle 3

Keimung von Roggensteinbrandsporen auf sterilisiertem Schlämmboden bei Licht und bei absoluter Dunkelheit

Sporenherkunft 1952. Aufstellung bei 5° C

Aufstellung	Schlämmboden	Keimzahl nach Tagen		
		22	30	38
Licht (~ 1200 Lux)	sterilisiert	2,5	4	3—4
	normal	2	3,5	3
absolute Dunkelheit	sterilisiert	1	—	—
		—	—	1,5
	normal	0,3	—	—
		—	—	0,4

Es blieb noch zu klären, wieweit die Keimung der Roggensteinbrandsporen auf sterilisiertem Schlämmboden von der Temperatur abhängig war. Hierbei interessierte vor allem, ob auf diesem Substrat eine Sporenkeimung auch bei Temperaturen, die über der maximalen Keimungstemperatur des Roggensteinbrandes (9) lagen — also bei höheren Temperaturen als 10° bis 12° C —, möglich war.

Aus der Tabelle 4 ergibt sich hierzu, daß bei Temperaturen von 12° oder 18° C auf dem sterilisierten Schlämmboden, ebenso wie auf normalem Boden, keine Keimung erfolgte. Temperaturen unterhalb von 12° C waren also in jedem Fall für die Auslösung der Sporenkeimung eine unumgängliche Voraussetzung. Am günstigsten wirkten Temperaturen von 2° C, die auf sterilisiertem Schlämmboden Keimzahlen von 3 ergaben, wobei allerdings, wie zu erwarten, die Keimung im Vergleich zur Aufstellung bei 5° C etwas verzögert erfolgte.

Tabelle 4

Keimung von Roggensteinbrand auf sterilisiertem Schlämmboden bei verschiedener Temperatur

Sporenherkunft 1952. Aufstellung in relativer Dunkelheit

Schlämmboden	Aufstellung	Keimzahl nach Tagen					
		22	33	42	52	65	76
sterilisiert	2° C (± 1°)	0	1	2	3	3	3
	5° C (± 1°)	1	1,5	2	1,5	1	0,6
	12° C (± 3°)	0	0	0	0	0	0
	18° C (± 3°)	0	0	0	0	0	0
normal	2° C (± 1°)	0	0,5	0,7	0,6	0,4	0,4
	5° C (± 1°)	0,5	0,7	0,5	0,6	0,7	0,6
	12° C (± 3°)	0	0	0	0	0	0
	18° C (± 3°)	0	0	0	0	0	0

3. Chemikalienwirkung auf sterilisiertem Schlämmboden

In einer vorhergehenden Veröffentlichung (11) wurde von uns gezeigt, daß es möglich ist, durch Behandlung der auf normalem Schlämmboden ausgestrichenen Zwerg- oder Roggensteinbrandsporen mit verschiedenen Chemikalien die Keimung stark zu fördern. Einige Versuche wurden durchgeführt, um zu prüfen, ob sich durch Behandlung mit diesen Chemikalien die gehemmte Keimung von Zwergsteinbrandsporen auf sterilisiertem Schlämmboden beheben ließ.

Oxalsäure, Pyrogallol, Eisensulfat und Wasserstoffperoxyd, die auf normalem Schlämmboden besonders stark stimulierend wirkten, blieben bei diesen Versuchen auf sterilisiertem Schlämmboden völlig ohne Wirkung. Lediglich bei Anwendung von Kaliumpermanganat gelang es vereinzelt,

jedoch nicht sicher reproduzierbar, auch bei den auf sterilisiertem Schlämmboden ausgestrichenen Zwergsteinbrandsporen schwache Keimungsförderungen zu erzielen.

Da es in weiteren Versuchen auch nicht gelang, auf Wasseragar ausgestrichene Zwergsteinbrandsporen durch Chemikalienbehandlung in der Keimung zu fördern und, wie von uns früher gezeigt werden konnte (11), Zwergsteinbrandsporen nicht in Lösungen dieser Chemikalien zur Keimung gebracht werden konnten, so muß angenommen werden, daß die Wirkung der Chemikalien auf diese Sporen nur in Zusammenwirken mit dem lebenden, unveränderten Schlämmboden erfolgen kann.

IV. Beeinflussung der Sporenkeimung durch Pilze

1. Gewöhnlicher Steinbrand

Bei Keimversuchen auf sterilisiertem Schlämmboden, der — wie im vorigen Abschnitt gezeigt wurde — stark hemmend auf die Sporenkeimung des gewöhnlichen Steinbrandes wirkte, wurde beobachtet, daß in einer Keimschale unter dem Myzel eines auf dem Substrat entwickelten Fremdpilzes die Keimung stark gefördert war (Abb. 5). Auffällig war dabei, daß diese Keimungsförderung nur unmittelbar unter den einzelnen, über die Sporenausstriche hinwegwachsenden Hyphen des Pilzes auftrat. Das in der Abbildung erkennbare weiße Netzwerk stammt nicht etwa von den Myzelsträngen des Pilzes, sondern von den darunterliegenden gekeimten Steinbrandsporen bzw. -sporidien. Das wesentlich feinere Myzel des Pilzes selbst ist neben dem Sporenausstrich auf dem Schlämmboden nur schwach als feines graues Gespinst zu erkennen.

Abb. 5. Fördernde Wirkung des Pilzstammes 30 auf die Sporenkeimung des gewöhnlichen Steinbrandes. Sporenausstrich auf warmsterilisiertem Schlämmboden. Aufstellung 11 Tage bei 12—14 ° C in relativer Dunkelheit. Vergr. 1 : 4

Der Pilz wurde isoliert und wird von uns als Stamm 30 geführt. Eine Bestimmung war bisher nicht möglich, da keine Fruktifikation beobachtet wurde.

Im Verlauf eines Jahres wurde der Stamm in insgesamt sieben Wiederholungen auf seine synergistische Wirkung an Sporen des gewöhnlichen Steinbrandes geprüft. Der Pilz wurde dazu auf sterilisiertem Schlämmboden oder auf einem Agar aus Pferdemistdekokt einige Tage bei 20 ° bis 27 ° C vorkultiviert; dann erst wurden die Steinbrandsporen bis unmittelbar neben die Pilzkolonie auf das Substrat aufgestrichen. Die weitere Aufstellung, während der der Pilz mit einem lockeren Myzel die

Steinbrandausstriche überwuchs, erfolgte bei 3 ° oder 15 ° C in relativer Dunkelheit.

Bei den ersten nach der Isolierung durchgeführten Versuchen konnte bei beiden Temperaturen sowohl auf Pferdemistagar wie auf sterilisiertem Schlämmboden eine ähnlich starke Keimungsförderung wie die in Abb. 5 gezeigte erhalten werden. Bemerkenswert war dabei, daß diese Förderung immer nur unter dem Myzel im peripheren Teil der Pilzkolonie, etwa 2 cm von ihrem Mittelpunkt entfernt, nie jedoch unter dem zentralen Teil der Kolonie auftrat. Bei weiteren Wiederholungsversuchen wurde dann die durch diesen Stamm zu erzielende Keimungsförderung immer schwächer und war, nachdem der Stamm sich etwa ein Jahr in Kultur befand, kaum noch zu erreichen. Es muß angenommen werden, daß der Pilz durch die Kultur auf künstlichem Substrat allmählich seine synergistischen Eigenschaften eingebüßt hatte.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde untersucht, ob auch andere Pilze bei Mischkultur mit Steinbrandsporen auf sterilisiertem Schlämmboden die Keimung des gewöhnlichen Steinbrandes zu beeinflussen vermögen. Es wurden hierzu Konidien-Aufschwemmungen von verschiedenen, aus Steinbrandausstrichen isolierten Fremdpilzen zu sterilisiertem Schlämmboden zugesetzt. Diese Böden wurden anschließend zwei Wochen bei 27 ° C bebrütet und erst dann mit Sporen des gewöhnlichen Steinbrandes ausgestrichen. Die weitere Kultur erfolgte bei 10 ° bis 15 ° C in relativer Dunkelheit.

Eine keimungsbeeinflussende Wirkung konnte nach dieser Methode nur für einen Stamm von *Trichoderma lignorum* (Tode) Harz = *T. viride* Pers.[1]) nachgewiesen werden. Der Pilz bildete auf dem Schlämmboden kleine Konidienpolster von 1 bis 2 mm ϕ, in deren Umgebung die Steinbrandkeimung völlig unterdrückt war. In etwas weiterer Entfernung (2 bis 5 mm) von diesen Konidienpolstern waren die Steinbrandsporen auf dem sterilisierten Schlämmboden gut gekeimt; die Keimungshemmung, wie sie sonst auf diesem Substrat auftrat, konnte also durch den Pilz behoben werden.

Da bei Wiederholungsversuchen *T. lignorum* zumeist nicht oder nur ungenügend auf sterilisiertem Schlämmboden zur Entwicklung gebracht werden konnte, wurde im folgenden Pferdemistagar als Substrat verwendet. Dieser Nährboden gestattet sowohl eine genügend starke, wenn auch nicht zu üppige Entwicklung des Pilzes, wie eine ausreichende Keimung der Steinbrandsporen. Nährstoffreiche Substrate erwiesen sich als ungeeignet, da hier wohl eine gute Pilzentwicklung, jedoch kaum Steinbrandkeimung möglich war. Auf Pferdemistagar war die Sporidienbildung der Steinbrandsporen im allgemeinen zwar nicht so stark wie auf normalem Schlämmboden; dies war

[1]) Myzel verzweigt, weiß, septiert, 3 bis 5 μ dick. Konidienträger zumeist dichotom oder trichotom, seltener wirtelig verzweigt; zur Spitze hin verjüngt. Sporen zuerst weiß, später grün, rund, 3,5 μ; zu 1 bis 8 an der Spitze der Konidienträger gebildet. Konidienpolster auf künstlichem Substrat in ringförmiger oder radialer Anordnung in kleinen, erst weißen, später grünen Häufchen angelegt. Kultur von stark aromatischem Geruch.

Für die Nachprüfung der Bestimmung dieses Stammes und die Übersendung einer Vergleichskultur danken wir dem Centralbureau voor Schimmelcultures in Baarn.

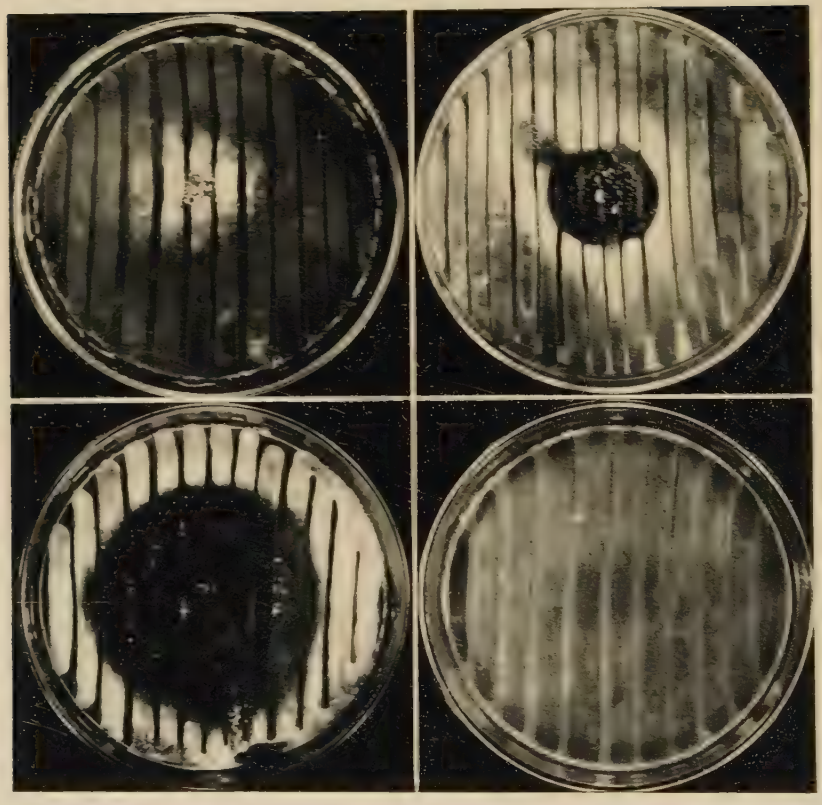


Abb. 6. Wirkung von *Trichoderma lignorum* auf die Sporenkeimung des gewöhnlichen Steinbrandes. Ausstrich auf Pferdemistagar in Petrischalen von 13 cm ∅. Aufstellung in relativer Dunkelheit. Aufnahme 7 Tage nach dem Ausstreichen der Steinbrandsporen.

a) Pilz zur gleichen Zeit mit den Steinbrandsporen aufgeimpft, dann 1 Tag Aufstellung bei 27°, anschließend bei 15° C. Im Bereich der Pilzkolonie völlige Keimungshemmung, dann ein etwa 1—1,5 cm breiter Förderungsbereich (Keimzahl 2—3)

b) Pilz 1 Tag vor den Steinbrandsporen aufgeimpft, bei 27° vorkultiviert. Nach dem Ausstreichen des Steinbrandes Aufstellung bei 15° C. Hemmungszone von etwa 3,5 cm ∅ (Keimzahl 0), anschließend ein Förderungsbereich von etwa 1 cm Breite (Keimzahl 3). Zum Rand hin unbeeinflußte Keimung (Keimzahl 0,7—1,5)

c) Pilz 3 Tage vor den Steinbrandsporen aufgeimpft, bei 27° vorkultiviert. Nach Ausstreichen des Steinbrandes Aufstellung bei 15° C. Hemmungszone von 7,5 cm ∅ (Keimzahl 0), anschließend ein bis zum Rand reichender Förderungsbereich (Keimzahl 3)

d) Kontrollschale mit Steinbrandausstrich ohne Zuimpfung des Pilzes. Aufstellung bei 15° C (Keimzahl 0,7)

jedoch für unseren Zweck nur günstig, da sich auf diese Weise sowohl hemmende wie fördernde Wirkungen des Pilzes deutlich erfassen ließen. Die keimungsbeeinflussende Wirkung von *T. lignorum* war bei Prüfung nach dieser Methode sehr ausgeprägt (Abb. 6).

Die Ausdehnung des Bereiches gehemmter und geförderter Keimung hing davon ab, wie lange vor dem Ausstreichen der Steinbrandsporen der Pilz auf dem Nährboden vorkultiviert worden war. Je größer sein Vorsprung vor den Steinbrandsporen war, um so ausgedehnter war die auftretende Hemmungs- und Förderungszone. Bei dreitägiger Vorkultur des Pilzes hatte die Hemmungszone einen Durchmesser von 7,5 cm; die anschließende Förderungszone reichte bis an den Rand der Petrischale, so daß ein Bereich unbeeinflußter Keimung hier nicht mehr erkennbar war.

Ein aus Baarn bezogener Stamm von *T. lignorum* zeigte eine ähnliche, wenn auch nicht ganz so starke, keimungsbeeinflussende Wirkung. Er unterschied sich von unserem Braunschweiger Stamm etwas in der Wuchsform, da die Konidienträger gleichmäßiger über das Substrat verteilt waren und keine wirtelige Verzweigung auftrat.

2. Zwergsteinbrand und Roggensteinbrand

Die beiden im vorigen Abschnitt gegen gewöhnlichen Steinbrand geprüften Pilze, Stamm 30 und *Trichoderma lignorum*, wurden auch gegen Zwerg- und Roggensteinbrandsporen getestet. Der Stamm 30 ließ dabei keinerlei Einfluß auf die Keimung dieser beiden Steinbrandarten erkennen. *T. lignorum* zeigte in mehreren Versuchen mit Roggensteinbrandsporen nur einmal eine schwache keimungsfördernde Wirkung; bei Zwergsteinbrandsporen blieb er wirkungslos.

In der Abb. 1 (S. 396) wurde ein Keimversuch mit Roggensteinbrandsporen auf normalem Schlämmboden gezeigt, bei dem in den Sporenausstrichen die Keimung an einigen Stellen fleckenweise gefördert war. Zumeist war diese Förderung in der Nähe kleiner, in den Sporenausstrichen enthaltener Brandbuttenstückchen besonders ausgeprägt, und es ließ sich oft ein von diesen Brandbuttenteilen auswachsendes dünnes Pilzmyzel erkennen. Auch bei Zwerg- oder Roggensteinbrandsporen, die auf Wasseragar oder Pferdemistagar ausgestrichen und in relativer Dunkelheit aufgestellt waren, trat teilweise eine gleiche, fleckenweise geförderte Keimung auf, die auch hier oft mit der Entwicklung von Pilzfremdinfektionen in den Sporenausstrichen in Zusammenhang stand. Alle diese Beobachtungen ließen vermuten, daß die Sporenkeimung des Zwerg- und Roggensteinbrandes in ähnlicher Weise wie die des gewöhnlichen Steinbrandes durch andere Pilze beeinflußt werden kann.

Einige der Fremdpilze, unter deren Myzel die Sporenkeimung begünstigt war, wurden isoliert und weiter untersucht. Für die nachstehend aufgeführten Stämme konnte dabei eine eindeutige keimungsfördernde Wirkung nachgewiesen werden:

Stamm 32: Isoliert aus einem Sporenausstrich des Zwergsteinbrandes auf Pferdemistagar. Der Stamm bildete auf Biomalzagar oder Czapek-Dox-Agar ein weißes, septiertes,

knorrig verzweigtes Myzel; in älteren Kulturen Entwicklung zahlreicher kleiner, schwarzer Sklerotien von 1 bis 2 mm Ø; Konidienfruktifikation wurde nicht beobachtet. In einem Fall konnte bei gemeinsamer Kultur mit Zwergsteinbrandsporen auf Pferdemistagar die Bildung schwarzer, runder Perithezien (320 μ Ø) beobachtet werden, die wahrscheinlich zu diesem Stamm gehörten. Asci 250 × 35 μ. Ascosporen zu 8 in den Schläuchen angeordnet, braun, mauerförmig septiert, 35 × 12 μ.

Stamm 33: Isoliert aus einem Sporenausstrich des Zwergsteinbrandes auf Wasseragar. Auf Biomalzagar wächst der Stamm mit rötlich-gelbem, dichtem Myzel und braun-roter Substratverfärbung. Myzel septiert, 2 bis 3 μ dick, verzweigt, zum Teil mit knotigen Anschwellungen. Konidienfruktifikation nicht beobachtet. In einer 16 Tage alten Kultur auf Pferdemistagar wurden in einem Falle fleischfarbene, kurzgestielte Apothezien (2 bis 3 mm Ø) mit Asci und schlauchförmigen Paraphysen beobachtet. Ascosporen zu je 8 in den Asci, einzellig, hyalin, oval, 13 × 8,5 μ, mit einer Eindellung an einer Seite.

Stamm 44: *Alternaria tenuis* auct. sensu Neerg., isoliert aus einem Zwergsteinbrandausstrich von Pferdemistagar. Konidien in Ketten gebildet, zumeist 24—28 × 10—14 μ groß, mauerförmig septiert mit drei bis fünf Querwänden; Spitze ausgezogen, zum Teil etwas knopfartig verdickt. Neben diesen vorwiegend gebildeten Konidien traten in der gleichen Einsporenkultur auch noch größere Sporen (bis 100 μ lang) mit bis zu zehn Querwänden sowie kleine Sporen mit nur einer Querwand auf.

Stamm 45: Dieser Stamm, eine *Stemphylium* sp., wurde gleichfalls aus einem Zwergsteinbrandausstrich von Pferdemistagar isoliert. Konidien einzeln seitlich an kurzen, verzweigten oder unverzweigten Konidienträgern gebildet; oft in Büscheln zu dreien oder mehreren zusammenstehend; unregelmäßig mauerförmig geteilt, etwas eingeschnürt, eiförmig, schwarzbraun 16—28 × 10—16 μ; ältere Konidien feinwarzig. Myzel zum Teil rosenkranzförmig septiert; knorrig verzweigt. Kolonie schwarzbraun[1]).

Versuche mit diesen Stämmen wurden in ähnlicher Weise durchgeführt wie auf Seite 404 beschrieben. Daneben wurde noch eine etwas abgeänderte Methode verwendet, bei der nach Vorkultur des Pilzes auf Pferdemistagar eine dünne Schicht Wasseragar aufgegossen, die Schalen anschließend einige Zeit im Warmluftstrom eingetrocknet und erst dann mit Steinbrandsporen ausgestrichen wurden. Das Eintrocknen erwies sich als günstig, da Steinbrandsporen um so besser auf Agar keimten, je trockner dieser war. Der Vorteil dieser Methode lag darin, daß die Steinbrandsporen auch unmittelbar über der Pilzkolonie ausgestrichen werden konnten. Der Pilz durchwuchs während der nachfolgenden Kulturdauer die Schicht des Wasseragars und überzog die Sporenausstriche mit einem lockeren Myzel, unter dem die Steinbrandkeimung noch gut zu erkennen war. Die Methode bot somit eine bessere Einwirkungsmöglichkeit der Pilze auf die Sporen; sie erwies sich besonders für den Stamm 33 als geeignet. Die Aufstellung aller Versuche erfolgte bei 3° bis 5° C entweder bei relativer oder absoluter Dunkelheit oder aber bei schwacher künstlicher Belichtung (Leuchtstoffröhren, etwa 100 Lux).

Eine Zusammenstellung der Ergebnisse aller mit diesen vier Stämmen durchgeführten Versuche gibt Tabelle 5. Wenn auch von mehreren Wiederholungen immer einzelne Versuche negativ ausfielen, so kann die keimungsfördernde Wirkung der Stämme 32, 44 und 45 gegen Zwergsteinbrand- und Roggensteinbrandsporen doch als gesichert angesehen werden. Als Beispiel wird in Abb. 7 die Wirkung des Stammes 44 auf die Zwergsteinbrandkeimung, in Abb. 8 die Wirkung dieses Stammes auf die Roggensteinbrandkeimung wiedergegeben. Abb. 9 zeigt die synergistische Wirkung der

[1]) Nach Bestimmung durch das Mykologische Institut der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Berlin-Dahlem, dem wir hierfür, wie auch für die Überprüfung der Determination des Stammes 44 unseren Dank sagen, handelt es sich um *Stemphylium ilicis* Tengwall.

Stemphylium sp. (Stamm 45) auf die Keimung der Roggensteinbrandsporen. Beim Stamm 33 war nur gegen Roggensteinbrand eine sichere Wirkung zu erzielen, während bei Prüfung dieses Stammes gegen Zwergsteinbrandsporen von insgesamt fünf Versuchen nur einer eine sichere Keimungsförderung ergab. Wir möchten jedoch annehmen, daß das Versagen gegen Zwergsteinbrand-

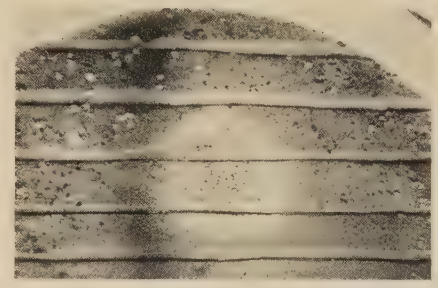


Abb. 7. Fördernde Wirkung von Pilzstamm 44 (*Alternaria tenuis*) auf die Sporenkeimung des Zwergsteinbrandes. Ausstrich auf Pferdemistagar. Aufstellung 62 Tage bei 5 ° C in relativer Dunkelheit. Verkl. 1,5 : 1

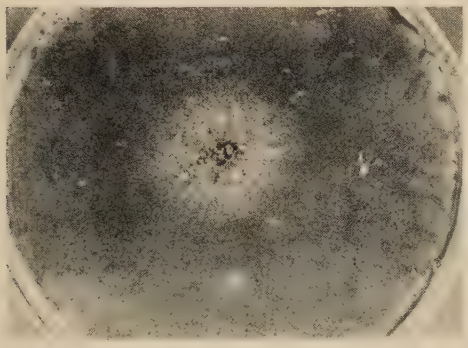


Abb. 8. Fördernde Wirkung von Pilzstamm 44 (*Alternaria tenuis*) auf die Sporenkeimung des Roggensteinbrandes. Ausstrich auf Pferdemistagar. Aufstellung 33 Tage bei 5 ° C in relativer Dunkelheit

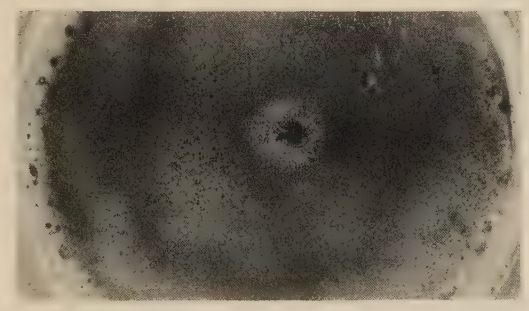


Abb. 9. Fördernde Wirkung des Pilzstammes 45 (*Stemphylium ilicis*) auf die Keimung des Roggensteinbrandes. Ausstrich auf Pferdemistagar. Aufstellung 32 Tage bei 5 ° C in relativer Dunkelheit

sporen hier eher methodisch bedingt war und nicht auf eine mangelnde synergistische Wirksamkeit dieses Stammes 33 zurückzuführen war.

Die Tabelle 5 läßt erkennen, daß die Keimungsförderung der Steinbrandsporen sowohl bei schwacher Belichtung wie auch bei D u n k e l h e i t erfolgt. Wir haben in der Einwirkung dieser Pilze demnach einen Faktor, der in der Lage ist, die normalerweise für die Sporenkeimung benötigte Lichteinwirkung zu ersetzen.

Die gegen Zwerg- und Roggensteinbrand wirksamen Pilzstämme wurden in ergänzenden Versuchen auch gegen Sporen des gewöhnlichen Steinbrandes getestet; eine Förderungswirkung konnte hier jedoch nicht erreicht werden.

Tabelle 5

Keimungsförderung von Zwergsteinbrand- und Roggensteinbrandsporen durch verschiedene Pilzstämme

Pilze zwei bis fünf Tage auf Pferdemistagar vorkultiviert, dann Steinbrandsporen ausgestrichen. Weitere Aufstellung bei 3° bis 5° C. Die Keimzahlen geben das Verhältnis der Sporenkeimung unter dem Pilzmyzel zur Keimung im übrigen (unbeeinflußten) Teil der Sporenausstriche. Bei den mit * bezeichneten Versuchen wurde nach Vorkultur des Pilzes eine dünne Schicht Wasseragar auf den Pferdemistagar aufgegossen, erst dann wurden die Steinbrandsporen aufgestrichen. Versuche mit positivem Ergebnis sind durch Fettdruck hervorgehoben

Sporen	Pilzstamm	Aufstellung	Keimzahlverhältnis nach Tagen									
			62	44	62	50	68	86	51	81	30	74
Zwerg-Steinbrand	Kontrolle	hell	0,5									
		rel. dunkel						0*		0*		
		abs. dunkel	0									
	32	hell	**1:0,4**									
		rel. dunkel										**1,5:0,3**
		abs. dunkel	**1:0**									
	33	hell										
		rel. dunkel						**1,5:0,3***		0:0*		0,1:0
		abs. dunkel	0:0*		0:0*							
	44	hell	**1:0,7**				**1,5:0,7**					
		rel. dunkel						**1:0***		**0,7:0***		**1,5:0,8**
		abs. dunkel	**0,4:0**		0:0*		**1:0**					
	45	hell	0,4:0,4				**1,5:0**					
		rel. dunkel								**0,5:0***		**1:0,4**
		abs. dunkel	**0,4:0**		0:0*		**1:0**					
Roggen-Steinbrand	Kontrolle	hell										
		rel. dunkel							0*		0,4	
		abs. dunkel	0,4									
	32	hell	**0,7:0**									
		rel. dunkel									0:0	
		abs. dunkel	**1:0,4**									
	33	hell	**1:0,7***									
		rel. dunkel							**1,5:0***		0:0	
		abs. dunkel	**1:0***	**1,5:0,8***								
	44	hell	0,4:0,4			2:2						
		rel. dunkel							**1,5:0***		**2:0,7**	
		abs. dunkel	**1:0,3**	0,7:0,7*		**2:1,5**						
	45	hell	**1:0,8**									
		rel. dunkel							**1:0***		**2:0,4**	
		abs. dunkel	**1:0,4**	**1:0,7***		**2:1**						

V. Beeinflussung der Sporenkeimung des gewöhnlichen Steinbrandes durch Bakterien

Das Auftreten von Flecken g e h e m m t e r Keimung in Steinbrandausstrichen auf normalem Schlämmboden (Abb. 2, S. 396), wobei zumeist keine Pilzentwicklung beobachtet werden konnte, wie auch die Angaben anderer Autoren (1, 15, 19, 28) über die hemmende Wirkung von Bakterien auf die Brandsporenkeimung veranlaßten uns, ergänzend zu den vorhergehend beschriebenen Versuchen mit Pilzen auch eine Anzahl von Bakterienstämmen auf eine antagonistische Wirkung gegen Steinbrandsporen zu prüfen. Für diese Versuche wurden nur Sporen des g e w ö h n l i c h e n Steinbrandes verwendet, da Zwerg- und Roggensteinbrand wegen der langsamen Sporenkeimung und ihrer Ansprüche an das Keimsubstrat methodische Schwierigkeiten bereiteten.

Die Bakterienstämme wurden hierzu aus Schlämmbodenerde, von Steinbrandbutten sowie aus Stellen gehemmter oder geförderter Steinbrandkeimung in Sporenausstrichen isoliert.

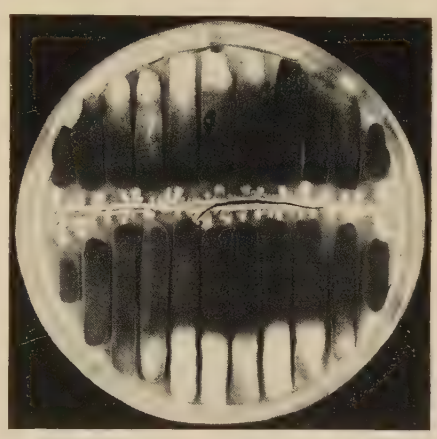


Abb. 10. Wirkung von Bakterienstamm 11 auf die Sporenkeimung des gewöhnlichen Steinbrandes. Bakterien 6 Tage bei 27 ° C auf Kartoffelagar vorkultiviert, Nährboden eingetrocknet, dann Steinbrandsporen aufgestrichen. Weitere Aufstellung 43 Tage bei 1—3 ° C in relativer Dunkelheit

Bakterien entwickeln sich nicht oder kaum auf Schlämmboden oder Pferdemistagar; Steinbrandsporen keimen im allgemeinen nicht auf nährstoffreichen Substraten oder bilden hier zumindest kaum Sporidien. Trotzdem war es bei Einhaltung bestimmter Bedingungen möglich, beide Organismen auf dem gleichen Substrat zur Entwicklung zu bringen. Die zu prüfenden Bakterien wurden hierzu strichförmig auf einen in dünner Schicht in Petrischalen ausgegossenen Nähragar (Fleischextraktagar oder Kartoffeldekoktagar) aufgeimpft und einige Tage bei 27 ° C vorkultiviert. Sobald die Kulturen genügend weit entwickelt waren, wurde der Nährboden bei mäßiger Wärme so weit eingetrocknet, daß er gerade zu reißen begann; anschließend wurden Steinbrandsporen aufgestrichen. Die weitere Aufstellung erfolgte in relativer Dunkelheit bei einer möglichst tiefen Temperatur (+ 1 ° bis 3 ° C), die noch gerade eine Keimung der Steinbrandsporen zuließ. Unter diesen Bedingungen war eine genügend starke Keimung und Sporidienbildung des Steinbrandes auf den Nährböden zu erreichen, während in den Sporenausstrichen vorhandene Fremdorganismen infolge ihrer höheren Temperatur- und Feuchtigkeitsansprüche sich nicht oder zumindest nicht so stark entwickeln konnten, daß sie störend in Erscheinung traten.

Für drei nicht näher bestimmte Bakterienstämme, von denen zwei aus Erde und einer von Brandsporen isoliert wurden, konnte mit dieser Methode ein antagonistischer Einfluß auf die Keimung der Steinbrandsporen nachgewiesen werden. Besonders deutlich war diese Keimungshemmung bei dem in Abb. 10 wiedergegebenen Versuch mit dem Bakterienstamm 11 zu erkennen. Neben der Bakterienaufimpfung war hier in einem Bereich von 10 bis 25 mm Breite die Steinbrandkeimung völlig unterdrückt. In Wiederholungsversuchen konnte für diesen Stamm im Anschluß an die Hemmungszone in einigen Fällen auch ein Bereich mit schwacher Keimungsförderung beobachtet werden.

Die Untersuchungen über die antagonistische Wirkung von Bakterien konnten aus äußeren Gründen nicht weiter fortgeführt werden. Die hier mitgeteilten Beobachtungen können daher nur als vorläufige Ergebnisse betrachtet werden.

VI. Diskussion

Das Ergebnis von Versuchen über Wechselbeziehungen zwischen verschiedenen Organismen wird in weit stärkerem Maße als einfache Keimversuche durch methodische Fragen bestimmt, da jeder äußere Faktor hierbei die Entwicklung von zwei Organismen beeinflußt.

Eine methodische Schwierigkeit bei den von uns durchgeführten Untersuchungen lag z. B. darin, daß die Sporenkeimung des Steinbrandes und die Entwicklung von Pilzen oder Bakterien sehr verschiedenartige Ansprüche an die Kultur stellen. So sind die für Steinbrandsporen geeigneten Keimsubstrate (z. B. Schlämmboden) für Pilz- oder Bakterienkulturen nicht oder nur wenig geeignet, während zu nährstoffreiche und feuchte Medien im allgemeinen keine Steinbrandkeimung zulassen. Ähnlich liegen die Verhältnisse bezüglich der Temperaturabhängigkeit. Die von uns gewählte Versuchsmethodik, wie Verwendung von Pferdemistagar oder sterilisiertem Schlämmboden als gemeinsames Substrat, Eintrocknen der Nährböden oder Vorkultur von Pilzen und Bakterien bei höheren Temperaturen und anschließendes Umstellen (nach dem Ausstreichen der Steinbrandsporen) auf tiefe Temperatur war daher immer ein Kompromiß und konnte niemals beiden Partnern optimale Bedingungen bieten.

Für Steinbrandsporen konnte von uns in früheren Untersuchungen (9, 11) nachgewiesen werden, daß die Empfindlichkeit für äußere Einflüsse (Licht, Temperatur, Chemikalienbehandlung) sich im Laufe der Entwicklung ändert. Für Bakterien und Pilze ist gleichfalls bekannt (3, 21, 27), daß die Bildung von Antibioticis sehr von den äußeren Bedingungen und dem Alter der Kulturen abhängt und diese Stoffe zudem zum Teil schon nach kurzer Zeit wieder inaktiviert werden. Es muß daher angenommen werden, daß auch die Wechselbeziehungen zwischen Steinbrandporen und Pilzen oder Bakterien dadurch bestimmt werden, daß beide Organismen im richtigen Entwicklungszustand aufeinandertreffen.

Unter Berücksichtigung dieser Gegebenheiten ist verständlich, daß nicht jede Wiederholung eines Versuches ein positives Ergebnis gab, wie es sonst bei Keimungsuntersuchungen zu fordern ist, und daß auch das Ausmaß der keimungsbeeinflussenden Wirkung eines Organismus bei Wiederholungen zum Teil von unterschiedlicher Stärke war. Wenn auch noch weitere Untersuchungen erforderlich sind, um die Wechselbeziehungen zwischen Steinbrandsporen und anderen Mikroorganismen im einzelnen zu klären, so darf die in unseren Untersuchungen festgestellte Beeinflussung der Sporenkeimung aller drei Steinbrandarten durch verschiedene Pilze und Bakterien doch als gesichertes Ergebnis betrachtet werden.

Bei den von uns untersuchten Pilz- und Bakterienkulturen handelt es sich um Stämme, die als zufällig auftretende Fremdinfektionen aus Sporenausstrichen isoliert wurden. Es ist anzunehmen, daß bei weiterer systematischer Prüfung sich noch andere Gruppen finden lassen, denen eine gleiche Wirksamkeit auf die Steinbrandkeimung zukommt. Ob auch grüne Bodenalgen eine keimungsbeeinflussende Wirkung haben können, wie es Gassner-Höchst (12) vermutete, wurde von uns nicht untersucht. Ausgeschlossen wäre eine derartige Einwirkung auf die Steinbrandkeimung nicht, da bereits von Gäumann und Jaag (13) ein synergistischer Einfluß von Grünalgen auf verschiedene Pilzkulturen nachgewiesen werden konnte. Die Beobachtungen, auf welche Gassner-Höchst (12) seine Vermutungen stützt, lassen jedoch bisher keinen endgültigen Schluß zu, da bei den von ihm durchgeführten Versuchen mit sterilisiertem Schlämmboden nicht nur die grünen Bodenalgen, sondern auch alle übrigen Mikroorganismen des Bodens abgetötet waren. Auch das von ihm angeführte und auch von uns beobachtete zeitliche Zusammenfallen von Algenbewuchs und Keimung der Zwergsteinbrandsporen in den Keimschalen kann rein zufällig sein, da beide durch Licht gefördert werden.

Untersuchungen über die Wirkungsweise der Pilz- und Bakterienstämme konnten von uns bisher nicht durchgeführt werden, da die Untersuchungen aus äußeren Gründen vorzeitig abgebrochen werden mußten. Wir beschränkten uns daher im folgenden auf einige Hinweise zu dieser Frage.

Die Ergebnisse unserer Versuche auf sterilisiertem Schlämmboden lassen sich bisher nicht deuten. Da die Hemmung der Sporenkeimung des gewöhnlichen Steinbrandes und des Zwergsteinbrandes auf diesem Substrat durch Reinfizieren des Bodens behoben werden konnte, dürfte es sicher sein, daß sie in irgendeiner Weise mit der Veränderung der Bodenmikroflora bei dieser Behandlung in Zusammenhang stand. Unklar ist jedoch, wie andererseits die fördernde Wirkung des sterilisierten Schlämmbodens auf die Keimung der Roggensteinbrandsporen zustande kam, da diese Art sich auf diesem Substrat gerade umgekehrt verhielt wie Zwergsteinbrand oder gewöhnlicher Steinbrand. Vielleicht wirken hierbei die in den verwendeten Roggensteinbrandproben oft vorhandenen Fremdpilzverunreinigungen mit, da deren Sporen sich auf sterilem Schlämmboden leichter als auf normalem Boden mit seinen konkurrierenden Organismen entwickeln könnten. Die

Keimungsförderung der Roggensteinbrandsporen auf sterilem Boden wäre dann sekundär auf dem Umweg über diese Pilze zu denken. Es wäre in diesem Fall allerdings zu erwarten, was noch zu prüfen bliebe, daß verschiedene Roggensteinbrandherkünfte sich je nach ihrem Fremdpilzbesatz unterschiedlich verhalten.

Auffällig war weiterhin, daß verschiedene Chemikalien, die bei den auf normalem Schlämmboden ausgestrichenen Zwergsteinbrandsporen stark stimulierend wirkten (11), ohne Einfluß blieben, wenn die Sporen auf sterilisiertem Boden ausgestrichen waren. Die Chemikalienwirkung konnte demnach nur im Zusammenwirken mit einem im normalen, lebenden Schlämmboden vorhandenen Faktor erfolgen. Über ähnliche Beobachtungen beim gewöhnlichen Steinbrand wurde schon von RABIEN (28) berichtet. Die von ihm untersuchten Chemikalien: Eisenoxydulsulfat, Oxalsäure, Silbernitrat und Pyrogallol, die auf Erde stark stimulierend wirkten, ergaben keine Förderung der Keimung, wenn auf Gipsplatten ausgestrichene Steinbrandsporen damit behandelt wurden. Nur Kaliumpermanganat hatte in seinen Versuchen auch bei auf Gips ausgestrichenen Sporen eine keimungsfördernde Wirkung. Ein Unterschied besteht allerdings darin, daß die Sporen des gewöhnlichen Steinbrandes im Gegensatz zu den Zwergsteinbrandsporen auch in Lösungen der Chemikalien keimen können.

Eine Einwirkung von Mikroorganismen auf die Steinbrandkeimung könnte man sich in Form einer stofflichen Beeinflussung durch Wuchsstoffe, Antibiotika oder gasförmige Stoffwechselprodukte, durch einen direkten Angriff auf das Epispor der Sporen (30) oder aber auf dem Weg über Veränderungen im Keimsubstrat vorstellen.

Für *Trichoderma lignorum* wurde bereits von anderer Seite in zahlreichen Untersuchungen (3, 21) die Bildung der Antibiotika Glioxin und Viridin nachgewiesen; es ist daher auch in unseren Versuchen sehr wahrscheinlich, daß der antagonistische Effekt des Pilzes auf diese Antibiotika zurückzuführen ist. Von Interesse war, daß von uns nicht nur hemmende, sondern auch fördernde Wirkungen auf die Steinbrandkeimung beobachtet werden konnten. Etwas Ähnliches fand bereits MELIN (23), der angibt, daß die in warm sterilisierten Nährböden gebildeten „Hemmstoffe", die das Wachstum koprophiler Pilze hemmen, durch vierwöchige Kultur von *T. lignorum* auf den Nährböden „zerstört" werden können, so daß danach auch andere Pilze auf diesem Substrat gut gedeihen. Auf welche Art in unserem Falle der Förderungseffekt erklärt werden könnte, durch eine stimulierende Wirkung stärkerer Verdünnungen der Antibiotika, wie es ja für viele Gifte bekannt ist, oder dadurch, daß andere, die Steinbrandkeimung hemmende Organismen durch *T. lignorum* bei gewissen Konzentrationen der Antibiotika stärker gehemmt werden als die Steinbrandsporen, vermögen wir nicht zu entscheiden. Es dürfte auf jeden Fall angebracht sein, bei der Verwendung von Antibioticis zur Bekämpfung phytopathogener Formen auf eine derartige mögliche Stimulationswirkung zu achten.

Eine keimungsfördernde Wirkung der gegen Zwerg- und Roggensteinbrand geprüften Pilzkulturen konnte auch bei absoluter Dunkelheit erhalten werden. Nachdem von uns bereits gezeigt werden konnte (11), daß die Sporenkeimung dieser beiden Steinbrandformen auch durch Chemikalienbehandlung in Dunkelheit ausgelöst werden kann, haben wir in der Einwirkung von Mikroorganismen einen weiteren Faktor, der in der Lage ist, die normalerweise notwendige Wirkung des Lichtes (9) bei der Keimung zu ersetzen. Dies ist für Zwerg- und Roggensteinbrand deshalb von besonderer Bedeutung, da auf diese Weise eine Möglichkeit besteht, daß die Sporenkeimung auch ohne Belichtung im Boden selbst und nicht nur an der Bodenoberfläche erfolgen kann.

Wie weit im einzelnen die keimungsbeeinflussende Wirkung von Pilzen oder Bakterien am natürlichen Standort im Boden in Erscheinung treten kann, läßt sich ohne entsprechende Versuche schwer sagen. Die in Abb. 1 und 2 wiedergegebene fleckenweise geförderte oder gehemmte Steinbrandkeimung auf normalem Schlämmboden, also einem dem natürlichen Boden ähnlichen Substrat, deutet jedoch darauf hin, daß dieser Faktor auch unter natürlichen Bedingungen von Bedeutung sein kann.

In Untersuchungen anderer Autoren (4, 6, 8, 16, 26, 28, 29, 32, 34) wurde vielfach eine Abhängigkeit der Steinbrandinfektion von edaphischen Faktoren wie Bodenart, Feuchtigkeit, Vorfrucht oder Düngung nachgewiesen, wobei diese Angaben, besonders über die Wirkung verschiedener Bodenarten, zum Teil recht widersprechend sind. Berücksichtigt man aber, daß sonst völlig gleichartige Böden sich durchaus in ihrer Mikroflora unterscheiden können (25), so sind derartig unterschiedliche Versuchsergebnisse nicht weiter verwunderlich.

Nach Glathe und Mitarbeiter (14) ist z. B. die Zusammensetzung der Mikroflora von trockenen und feuchten Böden sehr verschieden: in feuchten Böden dominieren Bakterien, in trockenen Böden Pilze und Actinomyceten; nach Kommedahl und Brock (22) kann die Vorfrucht gleichfalls die Zusammensetzung der Bodenmikroflora stark verändern. Da andererseits, wie von uns gezeigt, die Steinbrandsporen-Keimung und damit letzten Endes auch die Steinbrandinfektion stark durch andere Mikroorganismen — hemmend oder fördernd — beeinflußt werden kann, ist es durchaus möglich und wahrscheinlich, daß alle Bodenfaktoren, welche die Bodenmikroflora verändern, damit auch zugleich sekundär die Steinbrandinfektion beeinflussen können. Diese Beziehungen im einzelnen zu erfassen, dürfte allerdings nicht einfach sein, da es sich nicht nur, wie in unseren Versuchen, um eine Wechselwirkung zwischen zwei Organismen handelt, sondern beide wieder in vielfacher Weise von der anderen Bodenflora abhängig sind.

Unsere Untersuchungen befassen sich nur mit der Einwirkung von Mikroorganismen auf die Auslösung der Steinbrandkeimung. Daneben ist aber noch eine andere Wirkungsweise möglich, die Bamberg (1), Johnson (19) und auch Hahne (15) bei ihren Untersuchungen über die Bakterieneinwirkung vor allem im Auge hatten. Von ihnen wurde geprüft, ob die

bereits gebildeten Keimungsstadien des Steinbrandes durch einen direkten Angriff der Bakterien wieder aufgelöst werden können. Von uns wurde diese Frage nicht berücksichtigt. Daß sie jedoch von Bedeutung sein könnte, zeigte die hier wie auch schon früher (9, 11) von uns gemachte Beobachtung, wonach die auf dem Keimsubstrat gebildeten Sporidien im weiteren Verlauf des Keimversuches zumeist wieder aufgelöst werden. Die Keimzahlen, mit denen diese Sporidienbildung bonitiert wurde, gingen daher nach Erreichen eines maximalen Wertes bei höheren Temperaturen schnell, bei niederen Temperaturen etwas langsamer wieder zurück. Auch im Boden dürfte einer Auflösung der Keimungsformen des Steinbrandes durch Bakterien möglicherweise eine Bedeutung zukommen, da nach Untersuchungen von BONNE (2), WAGNER (33) und STRACHOV (31) in den Boden eingebrachte Sporen des gewöhnlichen Steinbrandes nur kurze Zeit infektionstüchtig bleiben, also auf irgendeine Art inaktiviert werden müssen.

Zusammenfassung

1. Es wird über den Einfluß von Pilzen und Bakterien auf die Sporenkeimung des gewöhnlichen Steinbrandes, Zwergsteinbrandes und Roggensteinbrandes berichtet.

2. Auf warm sterilisiertem Schlämmboden aus lehmiger Ackererde war die Sporenkeimung des gewöhnlichen Steinbrandes und des Zwergsteinbrandes im Vergleich zur Keimung auf normalem, nicht sterilisiertem Schlämmboden stark gehemmt; durch Reinfizieren mit Erdextrakt konnte diese hemmende Wirkung wieder behoben werden.

Die Keimung des Roggensteinbrandes war im Gegensatz hierzu auf sterilisiertem Schlämmboden stark gefördert. Diese Förderung wurde auch bei Aufstellung der Versuche in absoluter Dunkelheit erhalten.

3. Bei gemeinsamer Kultur von Sporen des gewöhnlichen Steinbrandes mit einem Stamm von *Trichoderma lignorum* auf Pferdemistagar war die Steinbrandkeimung in der Umgebung der Pilzkolonie völlig sistiert, in einigem Abstand von dieser Kolonie hingegen stark gefördert. Ein anderer, nicht näher bestimmter Pilz zeigte bei den auf sterilisiertem Schlämmboden ausgestrichenen Steinbrandsporen gleichfalls eine fördernde Wirkung.

4. Vier als Fremdinfektionen aus Steinbrandausstrichen isolierte Pilzstämme, darunter *Alternaria tenuis* und *Stemphylium ilicis*, erwiesen sich bei Zwerg- und Roggensteinbrandsporen als keimungsfördernd. Diese Stimulation der Keimung konnte sowohl bei schwacher künstlicher Belichtung wie bei absoluter Dunkelheit beobachtet werden.

5. Für verschiedene Bakterienisolierungen wurde auf künstlichem Substrat eine antagonistische Wirkung auf die Sporenkeimung des gewöhnlichen Steinbrandes nachgewiesen.

Literaturverzeichnis

1. Bamberg, R. H., 1931: Bacteria antibiotic to Ustilago zeae. Phytopathology **21**, 881 bis 891.
2. Bonne, C., 1931: Untersuchungen über den Steinbrand des Weizens. Angew. Bot. **13**, 169—209.
3. Brian, P. W., 1951: Antibiotics produced by fungi. Bot. Rev. **17**, 379.
4. Caspar, R., 1926: Über den Einfluß äußerer Faktoren auf den Steinbrandbefall des Weizens. Kühn-Archiv **12**, 205—256.
5. Curchward, J. G., 1940: The initiation of infection by bunt of wheat *(Tilletia caries)*. Ann. Appl. Biol. **27**, 58—64.
6. Feucht, W., 1932: Die Wirkung des Steinbrandes *Tilletia tritici* (Bjerkander) Winter und *Tilletia foetens* (Berkely et Curtis) Tulasne auf verschiedene Winterweizensorten bei künstlicher Infektion in ihrer Abhängigkeit von äußeren Faktoren. Phytopath. Z. **4**, 247—290.
7. Flor, H. H., 1932: Heterothalism and hybridization in *Tilletia tritici* and *T. levis*. J. Agric. Res. **44**, 49—58.
8. Gassner, G., 1925: Über die Abhängigkeit des Steinbrandauftretens von der Bodenbeschaffenheit. Angew. Bot. **7**, 80—87.
9. — — und Niemann, E., 1954: Untersuchungen über die Temperatur- und Lichtabhängigkeit der Sporenkeimung verschiedener *Tilletia*-Arten. Phytopath. Z. **21**, 367—394.
10. — — und — —, 1954: Über die Infektion von Weizen und Roggen durch verschiedene *Tilletia*-Arten. Phytopath. Z. **22**, 109—124.
11. — — und — —, 1955: Über die Beeinflussung der Sporenkeimung des Zwergsteinbrandes und Roggensteinbrandes durch verschiedene Chemikalien. Phytopath. Z. **23**, 122—140.
12. Gassner-Höchst, G. G., 1953: Untersuchungen über Keimungsbedingungen und Bekämpfungsmöglichkeiten beim Zwergsteinbrand *(Tilletia brevifaciens)* im Laboratorium. Phytopath. Z. **21**, 53—62.
13. Gäumann, E. und Jaag, O., 1951: Bodenbewohnende Algen als Wuchsstoffspender pflanzenpathogener Pilze. Phytopath. Z. **17**, 218—228.
14. Glathe, H., v. Bernstorff, C. und Arnold, A., 1954: Lebensgemeinschaft von Mikroorganismen und höheren Pflanzen im Bereich der Rhizosphäre. Zbl. Bakt. II, **107**, 481—488.
15. Hahne, J., 1923: Untersuchungen über Keimungsbedingungen von *Tilletia*-Sporen. Dissert. Halle.
16. Hecke, L., 1924: Boden- und Steinbrand. Bl. f. Pflanzenbau und Pflanzenzücht. **2**, 1—4.
17. Holton, C. S., 1941: Preliminary investigations on dwarf bunt of wheat. Phytopathology **31**, 74—82.
18. Janke, A., 1946: Arbeitsmethoden der Mikrobiologie. Bd. I, Dresden und Leipzig.
19. Johnson, D. E., 1931: The antibiosis of certain bacteria to smuts and some other fungi. Phytopathology **21**, 843—863.
20. Kehl, H., 1941: Zur Sporenkeimung beim Speisechampignon. Gartenbauwiss. **16**, 47—50.
21. Köhler, H.: Antibiotika und ihre Bedeutung in der Pflanzenpathologie I—IV. Nachr. Bl. dtsch. Pflanzenschutz-Dienst n. F. **4**, 161—164 u. 185—193 (1950), n. F. **7**, 12—18 u. 108—113 (1953).

22. Kommedahl, T. and Brock, T. D., 1954: Studies on the relationship of soil mycoflora to disease incidence. Phytopathology **44**, 57—61.

23. Melin, E., 1934: Svensk. bot. Tidskr. **28**, 441. Zitiert n. Janke (18) S. 151.

24. Migula in: Thomé, 1934: Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz. Leipzig.

25. Niethammer, A., 1937: Die mikroskopischen Bodenpilze. s'Gravenhage.

26. Pichler, F., 1953: Zur Frage der Keimung von Roggen- und Zwergsteinbrandsporen. Pflanzenschutzber. **11**, 12—17.

27. v. Prentz, H. D., 1954: Über den Einfluß einiger physiologischer Faktoren auf die Hemmungsstoffabsonderung bei *Penicillium* Link. und *Trichoderma* Tode. Zbl. Bakt. II, **107**, 506—522.

28. Rabien, H., 1927: Über Keimungs- und Infektionsbedingungen von *Tilletia tritici*. Arb. Biol. Reichsanst. f. Land- u. Forstwirtsch. **15**, 297—353.

29. Rodenhisser, H. A. and Taylor, J. W., 1940: Effects of soil type, soil sterilization and soil reaction on bunt infection at different incubation temperatures. Phytopathology **30**, 400—408.

30. Sappa. Zitiert n. Schmucker, 1941: Fortschr. Bot. **10**, S. 312.

31. Strachov, T. D., 1953: Der pathologische Prozeß bei Pflanzen und die Degeneration des Getreidebranderregers. II. Die Degeneration der Getreidebranderreger außerhalb der Pflanzengewebe und die Umweltfaktoren (russisch). Mikrobiologija **22**, 185—193. Referat in Ber. wiss. Biol. 1954; **87**, S. 128.

32. Tapke, V. F., 1948: Environment and the cereal smuts. Bot. Rev. **14**, 359—412.

33. Wagner, F., 1950: Auftreten, Sporenkeimung und Infektion des Zwergsteinbrandes an Weizen. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz **1**, 1—14.

34. Warmbrunn, K., 1952: Untersuchungen über den Zwergsteinbrand. Phytopath. Z. **19**, 441—482.

Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz der Technischen Hochschule Hannover

Untersuchungen über eine Anwendungsmöglichkeit des Ultraschalls in der Phytotherapie

(Ultraschallbehandlung zur Abtötung parasitischer Pilze und Bakterien im Innern von Samen, Früchten und Fruchtständen)

Von

H. Jaenichen und M. Heimann

Mit 13 Abbildungen

Inhalt: A. Problemstellung. — B. Methodik: 1. Versuchsobjekte, 2. Apparative Ausrüstung, 3. Versuchsanordnung zur Beschallung von Bakterienreinkulturen, 4. Versuchsanordnung zur Beschallung von Tomatensamen und Rübenknäueln. — C. Versuchsergebnisse: 1. Untersuchungen über die Ultraschallwirkung auf Bakterienreinkulturen, 2. Untersuchungen über die Ultraschallwirkung auf infizierte Tomatensamen (bei Verwendung von Wasser als Kopplungssubstanz), 3. Untersuchungen über die Ultraschallwirkung auf infizierte Tomatensamen bei Zusatz von Desinfektionsmitteln zur Kopplungssubstanz, 4. Freilandanbau- und Ertragsversuche von Tomaten (Rheinlands Ruhm), die aus beschalltem Samen aufgezogen wurden, 5. Untersuchungen über die Ultraschallwirkung auf pilzinfizierte Rübenknäuel unter Zusatz von Desinfektionsmitteln zur Kopplungssubstanz, 6. Freilandanbau- und Ertragsversuche mit Zuckerrüben nach Aussaat beschallter Rübenknäuel. — D. Besprechung der Ergebnisse. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

A. Problemstellung

Durch pilzliche und bakterielle Krankheitserreger, die mit dem Saatgut übertragen werden, entstehen alljährlich bei der Aufzucht von landwirtschaftlichen, gärtnerischen und forstlichen Pflanzen große Verluste. Relativ leicht sind die äußerlich dem Korn anhaftenden Keime auf dem Wege einer gewöhnlichen Naß- oder Trockenbeizung abzutöten. Etwas schwieriger wird das Problem dann, wenn Sporen von Pilzen zwischen die Samen- und Fruchthüllen gelangen (z. B. *Ustilago avenae*), oder wenn der Erreger mit Hilfe eines Keimschlauches die Hüllen oder die äußeren Schichten der Fruchtschale infiziert (z. B. *Fusarium nivale*, *Helminthosporium gramineum*, *Helminthosporium teres*). Meist führt hierbei die Anwendung von Beizmitteln, die eine

höhere Dampfspannung besitzen (wie z. B. die Alkyl-Hg-Verbindungen und Formaldehyd), zum Ziele. Dagegen versagt die chemische Beizung, wenn der Erreger den Samen oder die Frucht infiziert und in tiefere Schichten eindringt. Eine Bekämpfung solcher parasitischen Bakterien oder Pilze erscheint nach unserer heutigen Kenntnis nur mit physikalischen Maßnahmen möglich. Die einzige dieser Maßnahmen, die bisher eine praktische Bedeutung erlangt hat, ist die Heißwasserbeizung. Sie wird allerdings in der Praxis nicht gern durchgeführt, da sie verhältnismäßig umständlich und unsicher ist. Andere physikalische Einwirkungen, wie Röntgen-, Radium-, Ultraviolett- und Infrarotstrahlen, sind gelegentlich zur Abtötung solcher Parasiten herangezogen worden. Da jedoch die Resultate bisher unbefriedigend waren, ließ man die Anwendung solcher Maßnahmen wieder fallen.

Eine Samenbehandlung mit Ultraschall zur Abtötung pathogener Pilze und Bakterien ist bisher noch nicht versucht worden, dagegen liegt eine große Anzahl von Untersuchungen über den Einfluß des Ultraschalls auf Keimfähigkeit, Keimgeschwindigkeit, Wachstums- und Ertragsfähigkeit der Pflanzen vor, über die HESSE (1952) ausführlich referiert. Die Ergebnisse dieser Arbeiten variieren zwischen Förderung und Hemmung der Keimfähigkeit und Keimgeschwindigkeit sowie zwischen Förderung und Hemmung des Keimwurzel- und Sproßwachstums und des Ertrages der Pflanzen. HESSE prüfte die widersprechenden Resultate mit Samen von Zwiebeln und Radieschen und Früchten vom Winterweizen nach und kommt zu dem Schluß, daß bei hoher Intensität und langer Beschallungszeit die Keimfähigkeit herabgesetzt wird, daß bei niedriger Dosis Verzögerung der Keimfähigkeit eintritt und daß bei noch schwächerer eine Förderung der Keimgeschwindigkeit der Samen wahrscheinlich ist. Auf eine etwaige Beeinflussung pathogener Bakterien und Pilze wurde in den Arbeiten nicht geachtet. Sollte eine Abtötung der schädlichen Mikroorganismen des Saatgutes ohne Beeinträchtigung der Keimfähigkeit und der Keimgeschwindigkeit möglich sein, so müßte die Ultraschallbehandlung vor allem da wirtschaftlich durchführbar sein, wo die chemische Saatgutbeizung versagt. Das sind die oben erwähnten Fälle, bei denen der Krankheitserreger in tiefere Schichten des Samens der Frucht oder der Scheinfrucht eingedrungen ist.

Über den Einfluß des Ultraschalls auf Bakterien in vitro liegen ebenfalls teilweise widersprechende Untersuchungsergebnisse vor. Während z. B. YEN und LIU (1934) und AKIYAMA (1936) eine letale Wirkung des Ultraschalls auf *Bacterium typhi* beobachteten, konnte KNAPP (1952) eine Abtötung aller in einer Suspension vorhandenen Typhuskeime mit einer Intensität von 3 bis 5 W/cm² nicht erzielen. Auch LAPORTE und LOISELEUR (1945) erreichten durch Beschallung von Tuberkelbazillen nur eine 70- bis 90%ige Abtötung. Desgleichen erhielten VELTMANN und WOEBER (1949) und VELTMANN (1951) keine 100%ige Vernichtung der Tuberkelbazillen durch Ultraschall. Die Verminderung der Lebensfähigkeit stark beschallter Bakteriensuspensionen wurde wiederholt durch Abimpfungen festgestellt (WILLIAMS und GAINES, 1930; VELTMANN, 1951 u. a.).

In weit geringerem Maße als Bakterien wurden Pilze als Beschallungsobjekte herangezogen. Einige Untersuchungen wurden mit Hefezellen (*Saccharomyces ellipsoideus*) von Beckwith und Olsen (1931), Beckwith und Weaver (1936), Förster und Holste (1937) u. a. durchgeführt. Diese Autoren stellten ein Zerreißen der Zellen im Ultraschallfeld fest. Konidien von *Aspergillus niger* zeigten hingegen nach 40 Minuten Ultraschalleinwirkung mit 5 W/cm² keine Wachstumshemmung (Küster und Theismann, 1950). Auch Schumacher (1952) konnte keine Zerstörung von „Schimmelpilzsporen" durch „intensive und langdauernde" Beschallung beobachten.

Während es sich bei den erwähnten Untersuchungen um die Ultraschallwirkung auf humanpathogene Bakterien, Hefe- und Schimmelpilze in vitro handelte, haben sich nachstehende Versuche, entsprechend unserer Problemstellung vor allem mit dem Einfluß des Ultraschalls auf phytopathogene Bakterien und Pilze im Wirtspflanzengewebe zu befassen. Da die Luft die Ultraschallwellen fast 100%ig absorbiert, müssen die Beschallungen in einer flüssigen Kopplungssubstanz durchgeführt werden. Für biologische Zwecke verwendet man reines Wasser, wäßrige echte oder kolloidale Lösungen bzw. Suspensionen, die mehr oder weniger konzentriert sein können. Mit steigender Konzentration und zunehmender Viskosität des Beschallungsmediums sinkt die bakterizide und fungizide Wirkung des Ultraschalls. Im reinen Wasser ist sie am größten. So konnten Beckwith und Olsen (1931) bei Untersuchungen im Wasser als Kopplungssubstanz die Abtötung von Hefezellen erreichen, während Koch (1950) in Süßmosten nur eine Abnahme der Alkoholproduktion von Hefen um 25 % erzielte. Aus diesem Grunde ist auch eine Sterilisation von Fruchtsäften mit Ultraschall, wie Koch und Bretthauer (1951) feststellten, nicht möglich. Der gleiche Grund liegt für die bisher noch unbefriedigende Entkeimung von Milch durch Beschallung vor (Lemke, 1949; Springer und Köchel, 1951).

Mit einer noch stärkeren Abnahme der fungiziden und bakteriziden Wirkung ist dann zu rechnen, wenn Mikroorganismen im Innern von Zellen und Geweben beschallt werden. Wir haben dann nicht nur mit einer relativ hohen Viskosität des Plasmas zu rechnen, sondern auch mit stärkerer Absorption und Reflexion der Strahlen. Die wenigen Versuche über die Beschallung von Bakterien in vivo sind bisher nur auf medizinischem Gebiet, und zwar mit Tuberkelbazillen durchgeführt worden (Veltmmann und Woeber, 1949). Die Untersuchungen verliefen negativ.

Auch bei parasitischen Bakterien und Pilzen in pflanzlichen Geweben ist kaum mit einem anderen Ergebnis zu rechnen. Eine Beschallung erkrankter Sämlinge, Stecklinge oder Jungpflanzen ist wegen der damit verbundenen Schädigungen (Martinec, 1943; Stockebrand, 1952 u. a.) nicht möglich. Deshalb können nur Ruhestadien der Pflanzen ohne Gefahr einer Beeinträchtigung beschallt werden. Aus dieser Erwägung heraus erschien uns die Anwendung des Ultraschalls in einer abgeänderten Methodik gegenüber früheren Untersuchungen für Zwecke der Phytotherapie bei Samen, Früchten und Fruchtständen, die als Saatgut verwendet werden, geeignet.

B. Methodik

1. Versuchsobjekte

Für die Untersuchung der bakteriziden Wirkung des Ultraschalls benutzten wir *Bacterium michiganense,* das aus welkekranken Tomatenpflanzen (*Solanum lycopersicum*) isoliert worden war. Es wurden Reinkulturen in vitro bestrahlt, während wir zur Beschallung in vivo infizierte Samen aus kranken Früchten verwandten.

Die Untersuchungen über die fungizide Wirkung des Ultraschalls führten wir mit Rübenknäueln (*Beta vulgaris*) durch, die eine natürliche Infektion mit *Phoma betae, Cercospora beticola, Alternaria spec.* und *Fusarium spec.* aufwiesen.

2. Apparative Ausrüstung

Zum besseren Verständnis nachstehender Versuche und zur sicheren Beurteilung der Ergebnisse lassen wir einige technische Angaben folgen. Bekannt-

Abb. 1 Technisches Ultraschallgerät T 150. Rechts Generator mit Dosimeter für abgestrahlte Intensität; rechts vom Dosimeter Drehknopf zur Einstellung der Intensität. — In der Mitte der Abbildung Schallkopf mit (unten rechts) Hochfrequenzkabel, (unten links) Druckluftzuführung und (oben links und rechts unter dem Beschallungsgefäß) Wasserkühlung (Zu- und Ableitung). — Auf dem Schallkopf das aufgeschraubte Beschallungsgefäß. — Links Druckluftbombe mit Manometern

lich versteht man unter Ultraschall Schwingungen von einer Frequenz, die für das menschliche Ohr nicht wahrnehmbar sind. Die Hörbarkeitsgrenze liegt bei 12 bis 18 kHz (1 kHz = 1000 Schwingungen pro Sekunde). Es lassen sich mit technischen Mitteln Geräte konstruieren, die 10^7 kHz (= 10 MHz) erzeugen. Für therapeutische Behandlungen in der Humanmedizin und auch für biologische Untersuchungen hat sich bisher eine Frequenz von 800 bis 1000 kHz als optimal erwiesen. Die Wellenlänge beträgt hierbei etwa 2 mm.

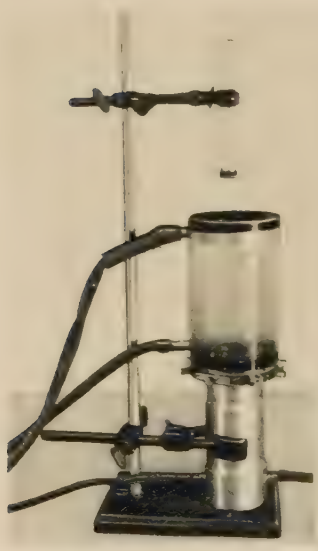
Es entstehen Druck- und Zugkräfte von je 5,5 atü, so daß insgesamt etwa 11 atü wirksam werden. Die Teilchenverschiebung ist hierbei jedoch außerordentlich gering und liegt in der Größenordnung von 10^{-6} cm (also $^1/_{100\,000}$ mm). Die Schwingungen werden bei den von uns verwendeten Apparaten durch piezoelektrische Quarzplatten hervorgerufen, die im elektrischen Hochspannungsfeld in rasche Schwingungen versetzt werden. Der Quarz ist mit einer Metallplatte, welche die Oberfläche des Schallkopfes bildet, fest verkittet. Der Apparat selbst besteht aus zwei getrennten Teilen; dem elektrischen Generator, der als Sender die erforderliche Hochspannung erzeugt, und dem Schallkopf, der als Empfänger die elektrischen Hochspannungsstöße in Ultraschallschwingungen umwandelt. Die Isolationsfähigkeit der inneren Teile des Schallkopfes wird durch Druckluft erhöht, die einer Preßluftflasche entnommen werden muß. Uns standen zwei technische Geräte, die mit verschiedenen Intensitäten gefahren wurden, zur Verfügung. Unter Intensität ist die Energie zu verstehen, die pro Sekunde von 1 cm^2 des Schallkopfes ausgestrahlt wird. Diese Leistung wird in W/cm^2 angegeben und kann jeweils während der Beschallung am Generator auf einem Dosimeter abgelesen werden.

Die Frequenz unserer Geräte betrug 800 kHz. Bei einer abstrahlenden Fläche von 10,5 cm^2 konnte die Intensität des einen Gerätes, T 70, dessen Generator mit geglätteter Gleichspannung arbeitete, kontinuierlich zwischen 0 und 6 W/cm^2 eingeregelt werden. Das andere Gerät, T 150 (siehe Abb. 1), arbeitete mit Doppelwellenwechselspannung und hatte eine maximale Ultraschallspitzenleistungsdichte von 20 W/cm^2. Die Geräte wurden uns freundlicherweise von der Firma Dr. Lehfeld & Co., Heppenheim, für die Untersuchungen überlassen, wofür auch an dieser Stelle nochmals gedankt sei.

3. Versuchsanordnung zur Beschallung von Bakterienreinkulturen

Zur Beschallung von Bakterienreinkulturen mit schwachen bis mittleren Ultraschallintensitäten (von 2 bis 20 W/cm^2) wählten wir die auf Abbildung 2 und 3 wiedergegebene Anordnung. Auf den Beschallungskopf war ein Glaszylinder von 160 mm Höhe und 60 mm Durchmesser aufgeschraubt. Der Zylinder, welcher der Aufnahme der Kopplungsflüssigkeit und der zu beschallenden Substanz diente, wurde von einem Wasserkühlmantel umgeben. In das Beschallungsgefäß tauchte als Versuchsgefäß ein Glasröhrchen von 140 mm Höhe und 15 mm Durchmesser bei einer Wandstärke von 0,8 bis 1,0 mm. Das Röhrchen war unten mit einer Cellophanmembran und oben mit einem Wattestopfen verschlossen. Die Temperatur des Wassers in dem Glaszylinder konnte bei Verwendung von Intensitäten bis zu 6 W/cm^2 durch den Kühlmantel auf 18 bis 20 ° C gehalten werden. Bei höherer Intensität wurde durch Zugabe von Eisstücken entsprechend gekühlt. In dem Röhrchen stieg die Temperatur nicht über 22 bis 23 ° C. Als Suspensionsmittel für Bakterien wurden Bouillon-Nährböden oder Aqua bidest. verwendet.

Die Beschallung der Suspension erfolgte, wie aus der Versuchsanordnung (Abb. 3) hervorgeht, senkrecht von unten nach oben. Das Versuchsgefäß wurde so in den wassergefüllten Glaszylinder gehängt, daß sein unterer Rand etwa 5 cm vom Schallgeber entfernt war. Eine exakte Angabe der Ultraschallenergie, die auf die Bakteriensuspension einwirkte, kann nicht gemacht werden, da durch Schallreflexion an der Grenze — Suspension : Luft — eine Überhöhung der Schallleistung gegenüber den von dem Dosimeter angegebenen Werten erfolgt. Auch ist die Größe der Absorption und Reflexion des Ultraschalls durch die Cellophanmembran, die zum unteren Verschluß des Versuchsrohres diente, nicht gemessen worden. Sie dürfte jedoch nur sehr gering sein. Das geht daraus hervor, daß sich die Höhe des Sprudels der Kopplungsflüssigkeit nicht merklich ändert, wenn in das Schallfeld eine Cellophanmembran entsprechender Größe parallel zur abschallenden Fläche gebracht wird. Die Angaben in Tabellen und Text über die angewandte Ultraschallenergie entsprechen dem jeweiligen Zeigerstand des Dosimeters.



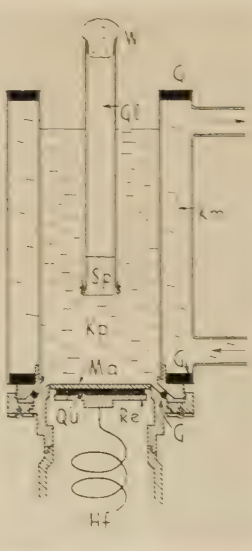


Abb. 2 (links) und 3 (rechts). Beschallungsanordnung für Bakterienreinkulturen (Bestrahlung in vitro)

Abb. 2. Beschallungskopf des Gerätes T 70, unten mit Hochfrequenzkabel und Druckluftzuleitung. Bestrahlungsgefäß mit Wasserkühlmantel, darüber Glasröhrchen mit Cellophanmembran zur Aufnahme der zu beschallenden Bakteriensuspensionen

Abb. 3. Schnittbild: Unten Beschallungskopf mit Hochfrequenzspule (Hf), Rückelektrode (Re), piezoelektrische Quarzplatte (Qu), mit dem Quarz verkittete Metallplatte (Ma). Beschallungsgefäß mit Kühlmantel (Km) auf Beschallungskopf verschraubt. Im Gefäß Kopplungsflüssigkeit (Kp), eingesenktes Glasrohr (Gl), unten mit Cellophanmembran verschlossen, oben mit Wattestopfen (W) versehen. Im Glasröhrchen Bakteriensuspensionen (Sp) zur Bestrahlung. An den verschiedenen Stellen Gummidichtungen (G)

Zur Untersuchung der bakteriziden Wirkung bei Intensitäten über 20 W/cm² benutzten wir eine Vorrichtung zur Bündelung der Ultraschallwellen (vgl. Abb. 4). Durch parabolische Spiegelung eines großen Teiles der abgestrahlten Ultraschallenergie konnten Intensitäten bis 50 W/cm² erhalten werden. Die Bakteriensuspension wurde in einem kleinen kugelförmig erweiterten Glasröhrchen beschallt.

Um die jeweilige Wirkung der Behandlung festzustellen, machten wir nach der Beschallung Ausstriche der Suspension auf Bouillon-Agarplatten. Diese wurden bei 27 ° C bebrütet und laufend nach zwei, vier, sechs und zehn Tagen hinsichtlich der Wachstumsstärke und der Zahl der Kolonien bonitiert.

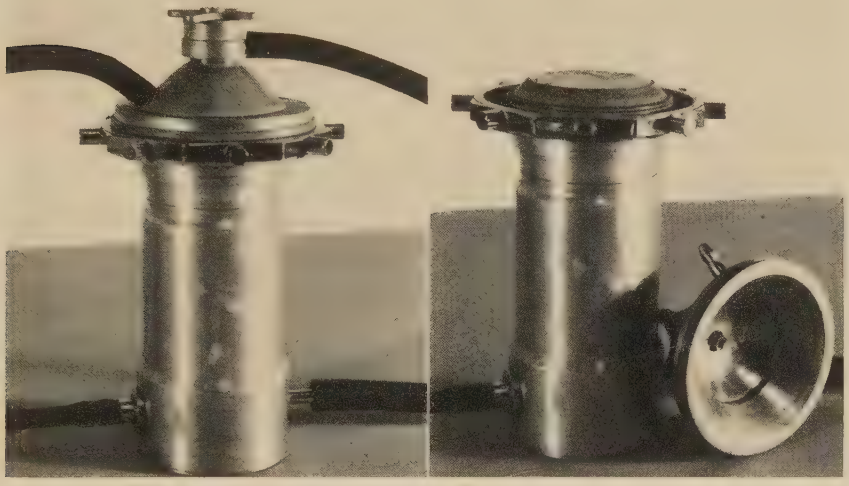


Abb. 4. Vorrichtung zur parabolischen Bündelung der Schallstrahlen. Rechts Spiegelvorrichtung vom Schallkopf abgeschraubt. Im Brennpunkt der parabolischen Spiegelfläche befindet sich die kugelförmige Erweiterung des Glasröhrchens, die der Aufnahme der Bakteriensuspension dient. — Links Spiegelvorrichtung in Arbeitsstellung aufgeschraubt. Oben ist das festgeschraubte Röhrchen sichtbar. Parabolischer Spiegel mit Wasserkühlung (Zu- und Abfluß). Unten links Hochfrequenzkabel, rechts Druckluftzuführung

4. Versuchsanordnung zur Beschallung von Tomatensamen und Rübenknäueln

Die Untersuchungen über die Wirkung des Ultraschalls auf Bakterien in Tomatensamen und auf Pilze in Rübenknäueln erforderten eine Änderung obiger Versuchsanordnung. Werden im Wasser ruhende Samen bzw. Rübenknäuel dem Ultraschall ausgesetzt, so kommt es in deren Innerem zu Temperaturerhöhungen, die je nach Schallintensität, Einstrahlungsdauer und Größe der Samen erheblich über der Temperatur des sie umgebenden Wassers liegen können. Tabelle 1 läßt die Temperaturabhängigkeit im Innern von zusammengeknäulten Tomatensamen in Abhängigkeit von der Beschallungsdauer erkennen. 300 Samen wurden in einen kleinen Gazebeutel dicht gedrängt eingefüllt, so daß sie die Quecksilberkugel eines Thermometers einhüllten. Den Beutel hängten wir in die Mitte des Beschallungsgefäßes, so daß der Abstand von der abstrahlenden Fläche 5 cm betrug. Hierauf wurde mit 4,5 W/cm² beschallt.

Die Temperatur zwischen den Samen betrug nach 5 Minuten 45 ° C, nach 15 Minuten 61 ° C und nach weiteren 25 Minuten 68 ° C, während sich die des Wassers auf etwa 22 ° C gehalten hatte. Wurde der Beutel mit den Samen in den Sprudel gebracht, so stieg die Temperatur auf 72,2 ° C an. Vergleichende Messungen mit Thermoelementen brachten das gleiche Resultat. Wir verwandten hierzu unter anderem Bohnen (*Phaseolus vulgaris*), die zur Aufnahme der Thermoelemente angebohrt wurden. Diese starke Erwärmung, die in früheren Versuchen oft nicht genügend berücksichtigt worden war, muß bei der Behandlung des Saatgutes vermieden werden. Aus diesem Grunde war genau so wie bei der Beschallung der Bakterienreinkulturen eine Wasserkühlung des Beschallungsgefäßes erforderlich.

Tabelle 1

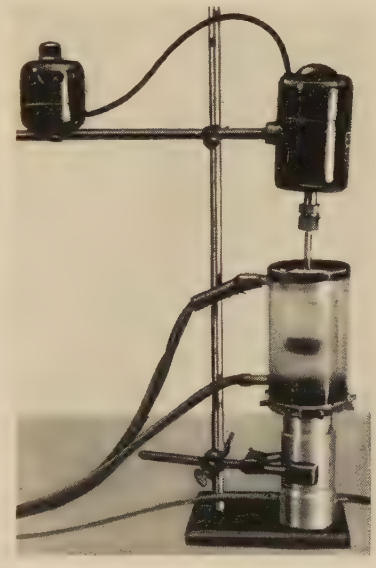
Temperaturzunahme zwischen 300 Tomatensamen in einem Gazebeutel in Abhängigkeit von der Beschallungszeit

Beschallungszeit in min	Temperatur zwischen den Samen °C	Temperatur des Wassers im Beschallungsgefäß °C
0	22	22,0
3	41	22,0
5	45	22,0
6	49	23,0
10	57	23,0
11	60	23,0
15	61	22,8
20	63	22,0
25	64	22,0
30	65	22,0
35	67	22,0
40	68	22,0

Durch weitere Versuche tasteten wir das Bestrahlungsfeld hinsichtlich der an den einzelnen Stellen wirksamen Schallenergie ab, wobei sich erhebliche Unterschiede bemerkbar machten. Am Rande ist die Beschallungsenergie geringer als in der Mitte. Da außerdem die abstrahlende Fläche des Quarzes etwas kleiner ist als die Bodenfläche des Beschallungsgefäßes, ergibt sich am Grunde des Gefäßes eine ringförmige tote Zone, in der keine Bestrahlung stattfindet, in der sich jedoch die Samen infolge geringerer Strömungsgeschwindigkeit ansammeln.

Um diese Fehlerquelle auszuschalten, waren wir bestrebt, die in der Kopplungsflüssigkeit befindlichen Samen bzw. Rübenknäuel in ständiger Bewegung zu halten, wodurch gleichzeitig der starken Erwärmung entgegengewirkt wurde. Wir erreichten das durch Verwendung eines Rührers mit Gummiflügeln und durch die Anbringung von zwei Längsrippen an der Innenseite des Beschallungsgefäßes (Abbildungen 5 und 6). Die Samen wurden durch

diese Anordnung ständig aus ihrer Bahn in den peripheren Schichten der Wassersäule herausgerissen und in die Mitte des Beschallungsgefäßes geführt. Hier wurden sie vom Strahlungsdruck erfaßt und nach oben getrieben. Der Strudel zog sie seitwärts wieder nach unten, wo sie, von der Drehbewegung erfaßt, erneut gegen die Längsrippen stießen und wieder in die Mitte des Schallfeldes gelangten. Durch diesen schnellen Wechsel des Ortes innerhalb des Bestrahlungsfeldes und durch ihre eigene Bewegung wurden die einzelnen Samenkörner bzw. Rübenknäuel von einer ziemlich gleichmäßigen Beschallungsenergie getroffen und vor einer Überhitzung bewahrt. Die Temperatur der Kopplungsflüssigkeit betrug während der Beschallung 18 bis 20 ° C. Schädigungen der Samen durch das Auftreffen auf die Längsrippen im Beschallungsgefäß oder durch die gelegentlichen Stöße der Gummiflügel des Rührers konnten nicht beobachtet werden.



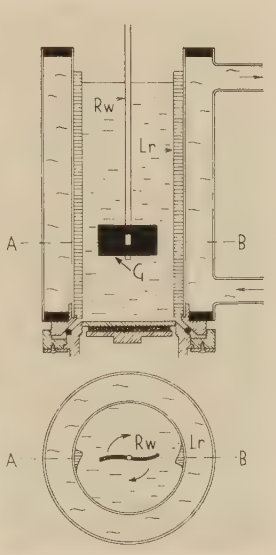


Abb. 5 (links) und 6 (rechts). Beschallungsanordnung für Saatgut (Samen, Früchte und Fruchtstände zur Bestrahlung von Bakterien und Pilzen in vivo)

Abb. 5. Unten Beschallungskopf des Gerätes T 70 mit Hochfrequenzkabel und Druckluftzuführung. Darüber Beschallungsgefäß mit Wasserkühlmantel und Rührvorrichtung (Stufenschalter und Rührwerk). Im Gefäß selbst ist der Rührer zu sehen

Abb. 6. Oben Längsschnitt: In dem vom Kühlmantel umgebenen Beschallungsgefäß Rührer (Rw) mit Gummiflügeln (G). An den Wandungen zwei Holzlängsrippen (Lr) in Stromlinienform. — Unten Querschnitt A—B: In der Mitte Rührer (Rw). An der Innenwandung des Beschallungsgefäßes Längsrippen (Lr)

Die Feststellung der Ultraschallwirkung auf die Bakterien in Samen und auf Pilze in Rübenknäueln erfolgte in der Weise, daß das Saatgut nach der Behandlung getrocknet, anschließend auf Agarplatten ausgelegt und bei 27 °C bebrütet wurde. Für die Tomatensamen verwandten wir Bouillon-Agar, für die Rübenknäuel Möhren-Agar. Die Bakterien- bzw. Pilzentwicklung wurde dann mit der unbeschallten Kontrolle verglichen. Gleichzeitig wurden nach den allgemeinen Vorschriften (Eggebrecht, 1949) Prüfungen auf Keimfähigkeit und Keimschnelligkeit durchgeführt.

C. Versuchsergebnisse

1. Untersuchungen über die Ultraschallwirkung auf Bakterienreinkulturen

a) Suspensionsmittel der Bakterien: Bouillon-Nährboden

Von gut gewachsenen Agar-Schrägrohrkulturen wurde *Bacterium michiganense* in flüssigen Bouillon-Nährboden übergeimpft und zehn Tage bei einer Temperatur von 27 ° C gehalten. Diese Kulturen brachten wir kurz vor der Beschallung mit Bouillon-Nährboden auf die zehnfache Verdünnung. Hiervon entnahmen wir je 3 cm³ für die einzelne Behandlung und beschallten nach der oben beschriebenen Versuchsanordnung. Die Keimzahl der verdünnten Suspension betrug etwa zehn Mill. Bakterien pro 1 cm³. Für die Bestrahlungen mit Intensitäten über 20 W cm² verwandten wir, wie oben angegeben, ein Röhrchen mit angeblasener Kugel, das mit jeweils 0,50 cm³ Bakteriensuspension gefüllt wurde. Nach der Beschallung erfolgte zur Feststellung der Wirkung Ausstrich auf Bouillon-Agarplatten, der beobachtet und hinsichtlich der Entwicklung von Bakterienkolonien bonitiert wurde. Die Bewertung erfolgte nach Anzahl und Stärke der gewachsenen Kolonien, wobei wir sechs Bonitätsgrade berücksichtigen:

Bonitätsgrade:

5 = sehr starkes Wachstum
4 = starkes Wachstum
3 = mittelstarkes Wachstum
2 = schwaches Wachstum
1 = sehr schwaches Wachstum
0 = kein Wachstum

Diese subjektiv bestimmte Gradation der Bakterienentwicklung war in unserem Falle ausreichend, da es uns vornehmlich auf die Ermittlung der letalen Dosis ankam. Die Abimpfungen wurden jeweils in zehnfacher Wiederholung vorgenommen. Die Daten der Tabelle 2 lassen die Abhängigkeit der Bakterienentwicklung von der Ultraschallenergie und der Beschallungszeit erkennen.

Aus der Tabelle ist zu ersehen, daß eine Ultraschallintensität von 2 W cm² keinen schädigenden Einfluß auf *Bacterium michiganense* ausübt; es findet vielmehr bis zu Beschallungszeiten von 20 Minuten eine Wachstumssteigerung gegenüber der Kontrolle statt. Selbst eine zwölfstündige Bestrahlung mit dieser Intensität löst keine nachteilige Wirkung aus. Auch 6 W cm² rufen bis zu 20 Minuten Einwirkung kein verringertes Wachstum der Bakterien hervor. Nach 30 Minuten Beschallung zeigt sich in den ersten Tagen eine leichte Entwicklungshemmung, die dann jedoch abklingt. Nach zehn Tagen ist kein Unterschied mehr gegenüber der Kontrolle vorhanden. Wird die Ultraschallintensität auf 18 bis 20 W cm² erhöht, so ist schon nach einer Wirkungszeit von 10 Minuten ein vermindertes Wachstum zu beobachten, das noch deutlicher und nachhaltiger bei längeren Bestrahlungszeiten in Erscheinung tritt. Eine Schallintensität von 20 bis 25 W cm² ruft nach 10 Minuten Bestrahlung in den ersten

Tabelle 2

Abhängigkeit der Bakterienentwicklung *(Bacterium michiganense)* von der Beschallungsintensität und der Beschallungszeit (bei Verwendung von Bouillon-Nährboden als Suspensionsmittel)

Beschallungsintensität	Beschallungszeit	Entwicklung der Bakterienkolonien			
		n. 2 Tg.	n. 4 Tg.	n. 6 Tg.	n. 10 Tg.
Kontrolle	—	3	5	5	5
2 W/cm²	10 min	4	5	5	5
	20 min	4	5	5	5
	30 min	3	5	5	5
	12 Std	3	5	5	5
6 W/cm²	10 min	3	5	5	5
	20 min	3	4	5	5
	30 min	2	3	4	5
18—20 W/cm²	10 min	2	3	4	5
	20 min	1	2	2	3
	30 min	1	2	2	2
20—25 W/cm²	10 min	1	3	4	5
	20 min	1	2	3	3
	30 min	0–1	1	1	2
25—30 W/cm²	10 min	1	2	3	3
	20 min	1	1	2	2
	30 min	0	0–1	1	1
30—40 W/cm²	10 min	0	1	1	1
	20 min	0	0	0	0
	30 min	0	0	0	0
40—50 W/cm²	10 min	0	0	0	0
	20 min	0	0	0	0
	30 min	0	0	0	0

Tagen eine starke Wachstumsdepression hervor, die dann jedoch nach und nach abnimmt. Anders ist es bei längeren Ultraschalleinwirkungen. In einer 30 Minuten lang beschallten Suspension werden die Bakterien so stark geschädigt, daß nach zehn Tagen die Entwicklung auf den Bouillon-Agarplatten noch ausgesprochen schlecht ist. Diese Entwicklungshemmung tritt bei der nächsthöheren Ultraschallintensität (25 bis 30 W/cm²) noch stärker hervor. Während normalerweise der Agarausstrich feuchtschleimig ist und nach einigen Tagen eine hellgelbe bis kräftiggelbe Färbung zeigt, sind die Kolonien stark beschallter Bakterien schleimarm und blaßgelb gefärbt. Nach einer Beschallung von 30 Minuten ist in den ersten Tagen überhaupt keine Entwicklung mehr zu beobachten. Nur einige kleine Kolonien, deren Durchmesser kaum mehr als 2 bis 3 mm erreicht, wachsen in zehn Tagen heran. Wird die Beschallungsintensität auf 30 bis 40 W/cm² gesteigert, so sind nach 20 Minuten Einwirkungszeit sämtliche Bakterien abgetötet. Bei 40 bis 50 W/cm² findet schon nach 10 Minuten keine Bakterienentwicklung mehr statt.

[illegible]

[illegible]

[illegible]

Tabelle 5

[illegible]

[illegible]	[illegible]	[illegible]			
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	—	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

Tabelle 4

Hitzeresistenz von *Bacterium michiganense* in Bouillon-Nährboden

Temperatur	Einwirkungsdauer	Entwicklung der Bakterien		
		n. 2 Tg.	n. 4 Tg.	n. 10 Tg.
30 ° C	2 min	4	5	5
	5 min	4	5	5
	10 min	4	5	5
	20 min	4	5	5
	40 min	4	5	5
40 ° C	2 min	4	5	5
	5 min	4	5	5
	10 min	4	5	5
	20 min	4	5	5
	40 min	3	4	5
50 ° C	2 min	3	5	5
	5 min	3	5	5
	10 min	2	3	4
	20 min	2	3	4
	40 min	1	2	2
60 ° C	2 min	0–1	1	1
	5 min	0	0	0
	10 min	0	0	0
	20 min	0	0	0
	40 min	0	0	0

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß eine Abtötung von *Bacterium michiganense* im Bouillon-Nährboden erst bei einer Temperatur von 50 bis 60 ° C erfolgt, wobei selbstverständlich auch die Einwirkungsdauer der Wärme eine Rolle spielt. Im Beschallungsgefäß steigt dagegen die Temperatur selbst bei höchster Beschallungsintensität niemals über 30 ° C. Hiernach ist es ausgeschlossen, daß die Einwirkung bei der Beschallung ein Wärmeeffekt ist.

2. Untersuchungen über die Ultraschallwirkung auf infizierte Tomatensamen (bei Verwendung von Wasser als Kopplungssubstanz)

Nachdem die Versuche mit Reinkulturen von *Bacterium michiganense* gezeigt hatten, daß eine Abtötung dieser pathogenen Organismen durch Anwendung hoher Ultraschallintensitäten möglich ist, schien eine Beeinträchtigung in vivo, in unserem Falle im infizierten Samen, möglich zu sein. Bekanntlich wird die durch *Bacterium michiganense* hervorgerufene Welkekrankheit der Tomaten hauptsächlich durch den Samen übertragen (Kotte, 1930; Orth, 1937). Für die Untersuchungen verwandten wir Samen aus Früchten welkekranker Pflanzen, die starke Symptome einer natürlichen Infektion zeigten. Daß es sich bei den Erkrankungen tatsächlich um eine solche Bakterienwelke handelte, stellten wir durch Isolierung und Infektion mit gewonnenen Reinkulturen fest. Die Samen wurden nach der oben be-

schriebenen Versuchsanordnung mit verschieden hohen Intensitäten unterschiedlich lange beschallt. Die Ultraschallbestrahlung erfolgte zunächst in Aqua bidest. als Kopplungssubstanz, während in späteren Versuchen gleiche Resultate mit Leitungswasser erzielt wurden. Nach der Beschallung trockneten wir die Samen bei Zimmertemperatur und legten zehn Samen zur Feststellung der Lebensfähigkeit der Bakterien auf einer Bouillon-Agarplatte aus, die bei 27° C bebrütet wurde. Die Kontrolle führten wir in zehnfacher Wiederholung durch, so daß jeweils 100 Samen zur Beurteilung einer Behandlung herangezogen werden konnten. Die Stärke der sich bildenden Kolonien wurde in derselben Weise wie bei den vorhergehenden Versuchen nach fünf Bonitätsgraden beurteilt. Da es lediglich galt, die für die Bakterien letale Dosis zu ermitteln, waren Zwischenwerte von untergeordneter Bedeutung, und es genügte die an und für sich subjektive Klassifizierung. Das Versuchsergebnis eines solchen mit Aqua bidest. durchgeführten Versuches ist in Tabelle 5 wiedergegeben.

Tabelle 5

Ultraschallwirkung auf *Bacterium michiganense* im Tomatensamen bei verschiedener Beschallungsintensität und Beschallungszeit

Beschallungsintensität	Beschallungszeit	Entwicklung der Bakterienkolonien			
		n. 2 Tg.	n. 4 Tg.	n. 6 Tg.	n. 10 Tg.
Kontrolle	—	3	4	5	5
6 W/cm²	10 min	3	4	5	5
	30 min	3	4	5	5
	60 min	2	3	4	5
18—20 W/cm²	10 min	2	2	4	5
	20 min	1	2	4	5
	30 min	1	2	4	5
	60 min	0	1	3	4

Die Bestrahlung mit 6 W/cm² hatte selbst bei langer Beschallungszeit von 60 Minuten einen kaum merklichen Einfluß auf das Wachstum der Kulturen. Die Bakterien werden hierbei durch Ultraschall im Samen nicht beeinträchtigt. Die Intensität von 18 bis 20 W/cm² ruft nach 10 bis 20 Minuten Beschallung anfänglich eine Hemmung der Entwicklung hervor, die nach zehn Tagen ganz oder zum Teil wieder aufgehoben war. Erst bei den 60 Minuten lang beschallten Samen zeigt sich eine länger anhaltende Wachstumsdepression. Die Wirkung des Ultraschalls auf Bakterien im Samen ist demnach bei gleicher Intensität und Beschallungszeit eine erheblich geringere als in Reinkulturen. Um eine sichere Abtötung in vivo zu erreichen, müßte die Ultraschallintensität noch mehr gesteigert werden. Es ist jedoch fraglich, ob diese kräftige Bestrahlung von den im Samen vorhandenen Embryonen ohne Schaden ertragen wird.

Zur Feststellung der Schädigungsgrenze gingen wir in derselben Weise wie bei Beizprüfungen vor, indem wir die Keimfähigkeit der mit steigenden

Intensitäten und zunehmenden Beschallungszeiten behandelten Samen ermittelten. Zur Prüfung der Keimfähigkeit benutzten wir den JACOBSchen Keimapparat oder kleine, mit FRUHSTORFERscher Einheitserde (Untergrundlehm, Schwarz- und Weißtorf maschinell gemischt und mit Nährlösung versetzt) gefüllte Tonschalen. Die Tabelle 6 enthält die Keimprüfungsergebnisse eines derartigen Versuches in FRUHSTORFERscher Einheitserde.

Tabelle 6

Ultraschallwirkung auf die Keimfähigkeit von Tomatensamen (Rheinlands Ruhm) bei verschiedenen Intensitäten und Beschallungszeiten

Beschallungsintensität	Beschallungszeit	Keimfähigkeit Mittel aus sechs Wiederholungen mit je 300 Samen nach 17 Tagen in FRUHSTORFERscher Einheitserde
Kontrolle	Ohne Beschallung 30 min in Aqua dest.	94 %
6 W/cm²	10 min	96 %
	30 min	97 %
	60 min	93 %
18—20 W/cm²	10 min	92 %
	20 min	89 %
	30 min	82 %
	60 min	64 %

Die Beschallung mit 6 W/cm² bis zu einer Dauer von 30 Minuten bewirkte gegenüber der Kontrolle eine Steigerung der Keimfähigkeit bis zu 3 %. Längere Bestrahlungszeiten setzten die Keimzahl herab. Wurde die Intensität auf 18 bis 20 W/cm² erhöht, so verringerte sich die Keimfähigkeit mit zunehmender Beschallungsdauer und betrug bei 60 Minuten nur noch 64 %.

Der Keimverlauf der beschallten Samen ist in den graphischen Darstellungen, Abb. 7 und 8, für die Ultraschallintensität 6 W/cm² und 18 bis 20 W/cm² wiedergegeben. Die keimfördernde Wirkung der Bestrahlung mit niederer Intensität, 6 W/cm² (Abb. 7), und kurzer Beschallungszeit (10 Minuten) wird durch den Kurvenverlauf noch deutlicher als aus den Zahlen der Tabelle über die Keimfähigkeit. Die längere Bestrahlungszeit von 30 Minuten bei gleicher Intensität führt, ebenfalls nach anfänglicher Hemmung, später nach 14 Tagen, zu einer Förderung. 60 Minuten Beschallung hemmt dagegen die Keimschnelligkeit und verringert die Keimprozente. Im allgemeinen differiert der Keimverlauf der verschieden beschallten Samen in den ersten Tagen des Versuches nur wenig. Bis zum dritten Tage zeigt die Beschallung, auch bei nur zehn Minuten Bestrahlungsdauer, eine schwache Verzögerung der Keimgeschwindigkeit gegenüber der Kontrolle. — Auch bei der höheren Ultraschallintensität von 18 bis 20 W/cm² (Abb. 8) ist die gleiche Erscheinung zu beobachten. Nur bei 60 Minuten Beschallungszeit tritt eine größere Abweichung des Kurvenverlaufs in Erscheinung. Recht deutlich ist in dieser

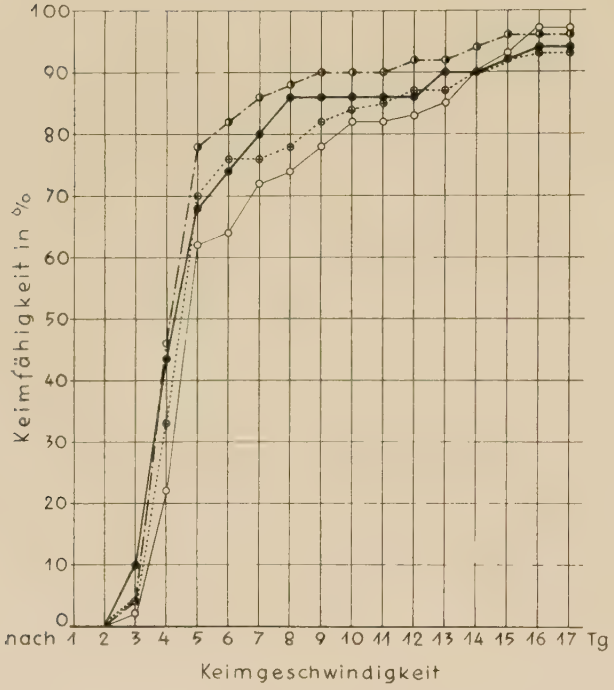


Abb. 7. U.S.-Wirkung auf die Keimschnelligkeit (Keimgeschwindigkeit) von Tomatensamen (Rheinlands Ruhm) bei Bestrahlung mit 6 W/cm² und zunehmender Beschallungszeit von 10—60 Minuten

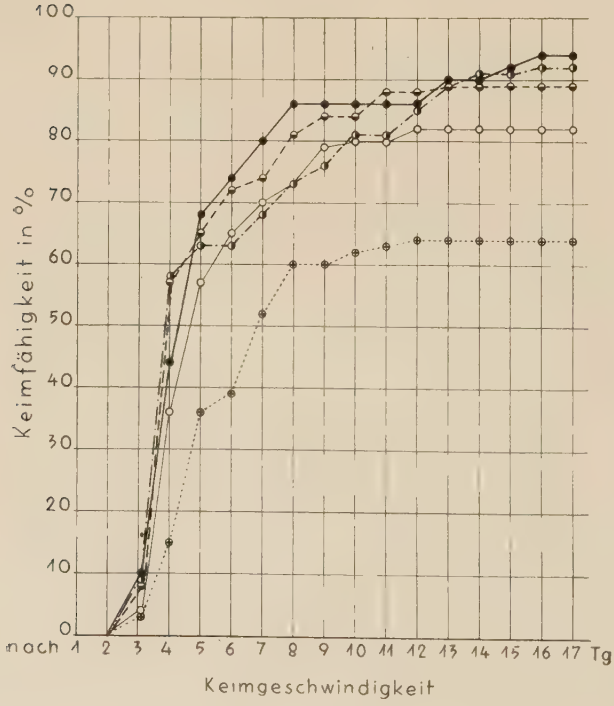


Abb. 8. U.S.-Wirkung auf die Keimschnelligkeit (Keimgeschwindigkeit) von Tomatensamen (Rheinlands Ruhm) bei Bestrahlung mit 18—20 W/cm² und zunehmender Beschallungszeit von 10—60 Minuten

Darstellung die Herabsetzung der Keimgeschwindigkeit und der Keimprozente mit steigender Intensität und Verlängerung der Beschallungszeit.

Jedenfalls ist die schädigende oder toxische Dosis der Beschallung für die Samen kleiner als die für Bakterien in vivo tödliche Dosis. Damit besteht ohne Abänderung der Methodik keine Aussicht für eine erfolgreiche Beschallung infizierten Saatgutes.

3. Untersuchungen über die Ultraschallwirkung auf infizierte Tomatensamen bei Zusatz von Desinfektionsmitteln zur Kopplungssubstanz

Da sich die bis dahin verwandte Methodik als unbrauchbar erwies, wandelten wir sie in der Weise ab, daß der Kopplungssubstanz bakterizide Stoffe in Erwartung einer Addition der Wirkung von Ultraschall und der bakteriziden Substanzen zugesetzt wurden. In einer größeren Anzahl von Versuchen erwies sich das 8-Oxychinolinsulfat (Chinosol) zur Behandlung des gegenüber Quecksilbermitteln sehr empfindlichen Tomatensaatgutes als besonders günstig. Wir geben nachstehend einen dieser Versuche mit steigender Konzentration des Desinfektionsmittels wieder, wobei wir mit einer konstanten Beschallungszeit von 30 Minuten und einer gleichbleibenden Ultraschallintensität von 6 W/cm² arbeiteten. Neben den Versuchsreihen, die mit Beschallung durchgeführt wurden, nahmen wir mit der gleichen Konzentration des Desinfektionsmittels Beizversuche bei 30 Minuten Tauchzeit vor. Die Temperatur der Beizflüssigkeit und der Kopplungssubstanz sowie des Aqua dest. der Kontrolle hielten wir konstant auf 20 ° C. Die Versuchsergebnisse sind hinsichtlich der bakteriziden Wirkung in der Tabelle 7 wiedergegeben.

Tabelle 7

Vergleich der bakteriziden Wirkung einer Einschallung mit der einer Tauchbeize bei Tomatensaatgut (Rheinlands Ruhm) unter Verwendung von Chinosol (8-Oxychinolinsulfat)

Beschallung		Konzentration des Chinosols	Entwicklung der Bakterienkolonien			
Art	Zeit		n. 2 Tg.	n. 4. Tg.	n. 6 Tg.	n. 10 Tg.
Kontrolle	30′	Aqua dest.	1	3	4	5
Beizung	30′	0,025 %	0	1	3	4
		0,05 %	0	1	3	4
		0,10 %	0	1	2	3
		0,25 %	0	0	0	1
		0,50 %	0	0	0	1
Einschallung bei 6 W/cm²	30′	0,025 %	0	0	1	2
		0,05 %	0	0	0	0
		0,10 %	0	0	0	0
		0,25 %	0	0	0	0
		0,50 %	0	0	0	0

Die Tauchbeize mit 8-Oxychinolinsulfat zeigt beim Vergleich mit der Kontrolle in Aqua dest. unverkennbar eine gewisse bakterizide Wirkung, die

jedoch nur bei den höheren Konzentrationen von 0,25 und 0,50 % evtl. ausreicht. Weit besser sind die Reihen mit Einschallung des Desinfektionsmittels zu beurteilen. Es genügt bereits eine Konzentration von 0,05 % bei 30 Minuten Beschallung mit einer Intensität von 6 W/cm² zur restlosen Abtötung der Bakterien.

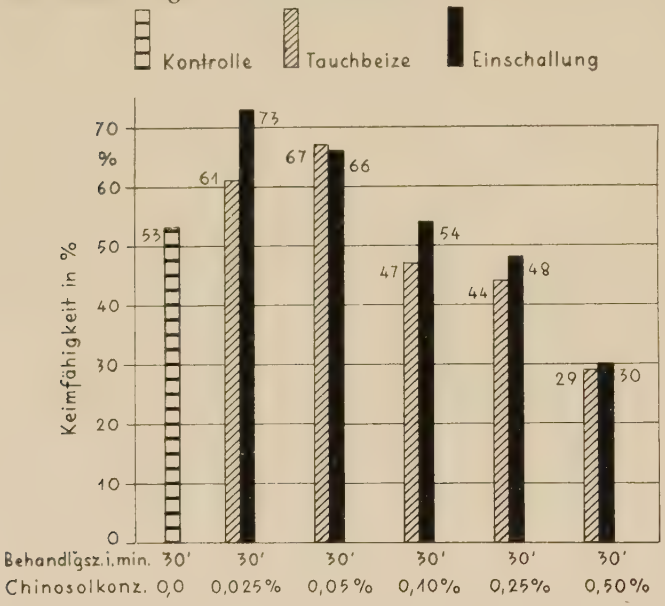


Abb. 9. U.S.-Wirkung auf die Keimfähigkeit von Tomatensamen im Vergleich zur Wirkung einer Tauchbeize bei verschiedenen Konzentrationen von Chinosol (8-Oxychinolinsulfat) in der Kopplungsflüssigkeit bzw. Beizfüssigkeit

Neben der bakteriziden Dosis ist natürlich noch die phytotoxische Dosis gegenüber den Tomatensamen zu berücksichtigen. Die graphische Darstellung (Abb. 9) zeigt das Ergebnis der Keimfähigkeitsprüfung aus dem vorgenannten Versuch. Die Konzentrationsstufen des 8-Oxychinolinsulfats sind auf der Abszisse und die Keimprozente auf der Ordinate eingetragen. Von den beiden

Tabelle 8

Steigerung der Keimfähigkeit von Tomatensaatgut (Rheinlands Ruhm) dreier verschiedener Herkünfte durch Ultraschallbehandlung

	1. Herkunft	2. Herkunft	3. Herkunft
Güte des Saatgutes	normal	schlecht stark infiziert	sehr schlecht sehr stark infiziert
Unbeschallt	88 %	63 %	38 %
Beschallt	97 %	73 %	67 %
Zunahme der Keimfähigkeit	9 %	20 %	29 %

nebeneinanderliegenden Säulen zeigt die linke jeweils die Keimfähigkeit der mit Chinosol-Tauchbeize bestimmter Konzentration behandelten Samen. Die rechte zeigt die Keimfähigkeit bei Einschallung von Chinosol gleicher Konzentration. Der Vergleich der Säulen gleicher Konzentrationen des Desinfek-

tionsmittels zeigt nur geringe Unterschiede. Bei der 0,05%igen Chinosollösung liegt die Keimfähigkeit der mit Tauchbeize behandelten Samen etwas, wenn auch nur unwesentlich höher als bei der Einschallung des Desinfektionsmittels. Alle übrigen Konzentrationsstufen weisen eine niedrigere Keimfähigkeit der nicht beschallten Samen auf. Die Konzentration von 0,50 % bewirkt sowohl bei Beschallung wie bei der einfachen Beizung eine Verringerung der Keimfähigkeit gegenüber der Kontrolle. Die Keimfähigkeit steigt mit abnehmender Konzentration an und erreicht bei Einschallung von 0,025 % Chinosol mit 73 % die höchsten Werte. Die zusätzliche Ultraschallwirkung von 6 W/cm² bewirkt somit keine Keimschädigung. Wenn eine Beeinträchtigung festzustellen ist, so beruht sie, sowohl bei der Tauchbeize wie auch bei der Beschallung, allein auf der Konzentration des Desinfektionsmittels.

Um Mißverständnissen vorzubeugen, betonen wir, daß es sich in unserem Falle um ein Saatgut handelte, dessen Keimfähigkeit durch starke Infektion recht niedrig war. Bei handelsüblichen Tomatensamen beträgt sie etwa 90 %. Es stand uns Saatgut der gleichen Sorte (Rheinlands Ruhm) von drei Herkünften zur Verfügung, die sich hinsichtlich der Stärke der Infektion unterschieden. Die Steigerung der Keimfähigkeit durch Ultraschallbehandlung nahm, wie Tabelle 8 erkennen läßt, mit dem Grad der Infektionsstärke zu.

Nach diesem Versuch muß es möglich sein, durch Einschallung einer 0,05%igen Chinosollösung gesunde Tomatenpflanzen zu erhalten. Jedoch kann eine Beurteilung der Brauchbarkeit eines solchen Verfahrens erst durch umfangreiche Anbau- und Ertragsversuche erbracht werden.

4. Freilandanbau- und Ertragsversuche von Tomaten (Rheinlands Ruhm), die aus beschalltem Samen aufgezogen wurden

Nachdem durch zahlreiche Variationen der Ultraschallintensität, der Beschallungszeit und der bakteriziden Stoffe eine günstige Kombination bezüglich der Keimfähigkeit und der Bakterienfreiheit der Samen festgestellt worden war, wurden umfangreiche Freilandversuche angesetzt. Zu einem dieser Versuche waren die Samen am 15. März 1953 mit 6 W/cm² beschallt worden. Als Kopplungssubstanz verwendeten wir:

1. Aqua bidest.,
2. 0,05 % 8-Oxychinolinsulfat (Chinosol),
3. 0,001 % Indolyl-3-Essigsäure (als Wuchsstoff),
4. 0,05 % 8-Oxychinolinsulfat + 0,001 % Indolyl-3-Essigsäure.

Zum Vergleich wurde eine Chinosol-Tauchbeize mit 0,05 % und 20 Minuten Tauchzeit durchgeführt. Die Beizflüssigkeit und die Kopplungssubstanz hielten wir während der Behandlung wiederum auf 20 ° C und trockneten anschließend, wie in den vorhergehenden Versuchen, bei Zimmertemperatur zurück. Am 21. März 1953 säten wir je 200 Samen einer Behandlung in Aussaatschalen mit Fruhstorferscher Einheitserde aus und stellten diese Aussaaten in ein Warmhaus. Am 5. April 1953 ergaben sich die in der Tabelle 9 wiedergegebenen Resultate der Keimfähigkeit. Die Beschallung ohne Desinfek-

tionsmittel und Wuchsstoff (Indolyl-3-Essigsäure) brachte die niedrigsten Keimprozente (92,5 % bei 10′ und 89,0 % bei 20′), die dem Wert des Ausgangsmaterials am nächsten lagen. Sobald Zusätze zur Kopplungs- und Tauchflüssigkeit erfolgten, nahm die Keimfähigkeit zu. Eine geringe Er-

Tabelle 9

Wirkung der Tauchbeize und der Einschallung von Stoffen auf Keimfähigkeit und Mortalität der Sämlinge (Tomatensorte: Rheinlands Ruhm)

Behandlung			Keimfähigkeit in %	Ausfälle in %	
Art	Zusätze	Dauer		bei der Keimung	bis zum Auspflanzen
Unbehandelt	—	—	88,0	12,0	—
Tauchbeize	Chinosol 0,05 %	20 min	94,0	6,0	16,5
Beschallung	Aqua bidest.	10 min	92,5	7,5	13,0
Beschallung		20 min	89,0	11,0	13,0
Beschallung	Indolyl-3-Essigs. 0,001 %	10 min	91,0	9,0	10,0
		20 min	94,0	6,0	6,5
Beschallung	Chinosol 0,05 %	10 min	96,0	4,0	9,5
		20 min	95,5	4,5	6,0
Beschallung	Chinosol 0,05 % + Indolyl-Essigs. 0,001 %	10 min	93,5	6,5	7,5
		20 min	97,0	3,0	5,5

höhung brachte der Zusatz von Indolyl-3-Essigsäure. Entscheidende Steigerungen ergaben sich jedoch erst nach Hinzufügen von Chinosol, verhältnismäßig unabhängig davon, ob beschallt oder nicht beschallt wurde und ob Indolyl-3-Essigsäure gleichzeitig vorhanden war. Ein sicherer Anhalt der Wirkung der Behandlung ergibt sich trotz allem nicht aus den erhaltenen Keimprozenten. Um so auffallender ist ein Vergleich der bis zum Auspflanzen der Tomaten entstandenen Verluste. Die Mortalität der Sämlinge war bei der Tauchbeize am größten (16,5 %), sank bei Beschallung in Aqua bidest. (13,0 %) und nahm noch mehr bei Hinzufügung von Wuchsstoff ab (10,0 und 6,5 %). Wurde Chinosol eingeschallt, so trat eine weitere Verminderung der Mortalität der Sämlinge ein (9,5 und 6,0 %). Den Bestwert bewirkte die Beschallung mit Chinosol + Wuchsstoff als Zusatz zur Kopplungssubstanz (7,5 und 5,5 %). In dem vorliegenden Versuch war die 20 Minuten währende Bestrahlung günstiger als eine solche von 10 Minuten. Den niedrigsten Ausfall an Pflanzen ergab eine 20 Minuten dauernde Einschallung von 0,05 % Chinosol + 0,001 % Indolyl-3-Essigsäure.

Die aufgelaufenen Sämlinge wurden am 10. April 1953 in 7-cm-Töpfe getopft, am 9. Mai 1953 in 11-cm-Töpfe umgetopft und am 3. Juni 1953 in Abständen von 75 × 50 cm ins Freiland ausgepflanzt, das bis dahin noch nie mit Tomaten bestellt worden war. Während der Vegetationsperiode erfolgte

Tabelle 10

Wirkung der Tauchbeize und der Einschallung von Wuchsstoffen und Desinfektionsmitteln auf Gesundheitszustand und Ertrag von Tomatenpflanzen (Rheinlands Ruhm)

Behandlung			Anzahl der Pflanzen aus je 200 Samen				Anzahl der Früchte			Erntegewicht in kg		
Art	Zusätze	Dauer	ausgepfl.	gesund am Ende d. Vers.	erkrankt b. Versuchsabschluß abs.	erkrankt b. Versuchsabschluß in % d. ausgepfl.	aller ausgepfl. Tomaten	je Pflanze abs.	je Pflanze relativ*	aller ausgepfl. Tomaten	je Pflanze abs.	je Pflanze relativ
Tauchbeize	Chinosol 0,05 %	20′	167	166	1	0,60	5790	34,67	100,00	329,687	1,974	100,00
Beschall. 6 W/cm²	Aqua bidest.	20′	174	174	0	0	6654	38,24	110,30	392,935	2,258	114,39
		20′	174	174	0	0	7369	42,35	122,15	438,875	2,522	127,76
Beschall. 6 W/cm²	Wuchsst. 0,001 %	20′	180	179	1	0,56	7753	43,07	124,23	471,807	2,621	132,78
		20′	187	187	0	0	7933	42,41	122,32	485,164	2,594	131,41
Beschall. 6 W/cm²	Chinosol 0,05 %	20′	181	180	1	0,55	7301	40,34	116,35	442,569	2,445	123,86
		20′	188	184	4	2,13	7587	40,36	116,41	460,243	2,448	124,01
Beschall. 6 W/cm²	Wuchsst. 0,001 % + Chinosol 0,05 %	20′	185	185	0	0	8278	44,75	129,07	508,195	2,747	139,16
		20′	189	189	0	0	7987	42,26	121,89	489,330	2,589	131,16

*) absoluter Wert bei Tauchbeize = 100.

weder eine Kopfdüngung noch eine Behandlung der Pflanzen mit fungiziden oder bakteriziden Stoffen. Vereinzelt starben noch einige Pflanzen ab, ohne daß sich Beziehungen dieser Verluste zur Behandlungsart ergaben. Es läßt sich nur hervorheben, daß bei der Einschallung von Chinosol + Indolyl-3-Essigsäure keine durch *Bacterium michiganense* erfolgte Mortalität mehr festzustellen war (vgl. Tabelle 10). Immerhin erscheinen diese geringen Unterschiede im Verhalten der Freilandpflanzen um so auffallender, als bei der Aufzucht sich erhebliche Differenzen hinsichtlich des Absterbens bei den verschiedenen Behandlungen zugunsten der Chinosol + Indolyl-3-Essigsäure-Behandlung ergeben hatten (vgl. Tabelle 9).

Vermutlich hat die größere Feuchtigkeit und Wärme während der Anzucht der Pflanzen unter Glas den Krankheitsverlauf beschleunigt, so daß in Verbindung mit der Spätpflanzung nur noch relativ wenig wirklich infizierte Pflanzen ausgesetzt wurden. Wahrscheinlich hätten wir bei gelegentlicher Wässerung höhere Erträge, möglicherweise auch deutlichere Welkesymptome erhalten. Auf einem unmittelbar benachbarten Versuchsfeld, wo Tomaten ohne Vorbehandlung ausgepflanzt waren und kräftig gewässert wurden, gingen mehr als zwei Drittel des ganzen Bestandes an bakterieller Tomatenwelke zugrunde. Ähnliches wäre bei unseren Kontrollen zu erwarten

gewesen, wenn das Material bei der Pflanzung und die Pflegemaßnahmen im Freiland die gleichen wie in diesem Versuch gewesen wären. Eine Wiederholung von Tomatenversuchen im Jahre 1954 bestätigte diese Beobachtung. Wir kamen mit einer Spätpflanzung in die Feuchtwetterperiode des vergangenen Sommers und hatten bei den unbehandelten Kontrollen großen Ausfall durch Bakterienwelke.

Die Ernte des zu besprechenden Versuches begann am 3. August 1953. Es wurde Anzahl und Gewicht der jeweils geernteten Früchte jeder einzelnen Pflanze ermittelt. Bis Ende der Erntezeit, am 28. Oktober 1953, ergab sich das in der Tabelle 10 wiedergegebene Resultat. Hinsichtlich der Beurteilung der Gesamthöhe des Ertrages betonen wir, daß es sich im vorliegenden Falle ebenfalls um eine Spätpflanzung handelte. Die Tomaten hätten 14 Tage früher im Freiland ausgesetzt werden können, wodurch sich der Gesamtertrag und der Ertrag der einzelnen Pflanzen entsprechend der Verlängerung der Vegetationsperiode vergrößert hätte. Im vorliegenden Falle kommt es jedoch weniger auf die absolute Ertragshöhe als vielmehr auf das Verhältnis des Ernteergebnisses bei den einzelnen Behandlungen an. Unserer Versuchsanstellung entsprechend hatten wir in den einzelnen Behandlungsreihen eine unterschiedliche Anzahl von Pflanzen, so daß die Umrechnung des Ertrages je Pflanze einen richtigeren Einblick gewähren muß als die alleinige Berücksichtigung der Gesamternte je Versuchsreihe. Die Anzahl der geernteten Früchte je Pflanze war bei Tauchbeize im Mittel mit 34,7 Stück am geringsten, wies bei Beschallung mit Aqua bidest. als Kopplungssubstanz bereits eine Steigerung auf (38,2 und 42,4 Stück) und nimmt noch mehr zu bei Zusatz von Wuchsstoff zur Kopplungssubstanz (43,1 und 42,4 Stück). Eine Einschallung von Chinosol verringerte den Behang der Pflanzen mit Früchten (40,3 und 40,4 Stück) gegenüber der Beschallung mit Aqua bidest. (42,4 bei 20 Minuten) oder einer Wuchsstofflösung (43,1 und 42,4). Dagegen stieg die Zahl sofort wieder bei gleichzeitiger Einwirkung von Chinosol und Wuchsstoff (44,7 und 42,3 Stück), wobei umgekehrt die 10 Minuten dauernde Bestrahlung günstiger wirkte als die mit 20 Minuten. Diese Tendenz wird bei der Betrachtung der relativen Werte, die auf die Fruchtzahl bei der Tauchbeize = 100 bezogen wurden, noch deutlicher.

Genau so wie die Anzahl der Früchte verhielt sich das Erntegewicht je Pflanze. Den geringsten Ertrag brachten die Pflanzen, die aus gebeiztem Saatgut aufgezogen waren (1,97 kg). Der Ertrag stieg proportional zur Fruchtanzahl an. Den Höchstertrag lieferten die Pflanzen, die aus 10 Minuten mit Chinosol + Wuchsstoff bestrahltem Samen aufgezogen waren (2,75 kg). Das bedeutet gegenüber der Tauchbeize einen höheren Ernteertrag von 39 %. Diese Versuchsergebnisse bestätigten unsere Untersuchungen aus dem Jahre 1952. Im Rahmen größerer Orientierungsversuche über die bakterizide und fungizide Wirkung des Ultraschalls mit verschiedenen Samenarten hatten wir damals bei Tomatensamen der gleichen Sorte (Rheinlands Ruhm) eine Steigerung des Ernteertrages im günstigsten Falle von 41 % gegenüber unbehandelten Kontrollen festgestellt. Bei diesen Versuchen waren der Kopp-

lungssubstanz ebenfalls Chinosol + Wuchsstoff zugesetzt worden. Die Anzahl der Versuchspflanzen in den einzelnen Reihen war gering und infolge mechanischer Schäden bei der Aufzucht unterschiedlich, wobei die Differenzen nicht mit der Beschallungsart in Beziehung gebracht werden können.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle 11 wiedergegeben. Aus den Daten geht hervor, daß eine Beschallung von 10 Minuten bei einer Intensität von 6 W/cm² die günstigsten Resultate brachte.

In einem anderen Tastversuch, bei dem wir Chinosol ohne Wuchsstoff einschallten, erhielten wir einen Mehrertrag von 37,7 %.

Nach diesen Resultaten ist es möglich, bei geeigneter Beschallungsdauer und Beschallungsintensität durch Abtötung oder Schwächung parasitischer Bakterien im Samen eine bessere Wüchsigkeit und einen höheren Ertrag bei Tomatenpflanzen zu erzielen.

Tabelle 11

Wirkung der Einschallung von Chinosol und Indolyl-3-Essigsäure auf den Ertrag von Tomatenpflanzen (Rheinlands Ruhm)

Behandlung			Anzahl der Versuchspflanzen	Erntegewicht in kg		
Art	Zusätze	Dauer		aller Pflanzen	je Pflanze	
					absolut	relativ
Tauchbeize	Chinosol 0,05 %	30 min	63	83,535	1,326	100,00 %
Beschallung 6 W/cm²	Chinosol 0,05 % + Indolyl-3-Essigsäure 0,001 %	10 min	52	97,257	1,870	141,05 %
		30 min	59	95,079	1,612	121,38 %
		60 min	62	98,200	1,584	119,44 %

5. Untersuchungen über die Ultraschallwirkung auf pilz-infizierte Rübenknäuel unter Zusatz von Desinfektionsmitteln zur Kopplungssubstanz

Nach den bisher dargestellten Versuchen über die bakterizide Wirkung des Ultraschalls ist es unmöglich, durch alleinige Bestrahlung Bakterien in vitro und in vivo bei Behandlungszeiten und Intensitäten abzutöten, welche die Wirtspflanzenzellen nicht schädigen. Küster und Theismann (1950) und Schumacher (1952) gelang es auch nicht, Pilzsporen in entscheidender Weise zu beeinträchtigen. Eigene Versuche mit Reinkulturen von *Pestalozzia guëpini, Thielavia basicola, Botrytis parasitica, Alternaria* spec., *Fusarium* spec. u. a. zeigten, daß eine Abtötung der Konidien von Pilzen mit Ultraschallintensitäten bis 20 W/cm² bei 30 Minuten Einwirkungszeit nicht möglich ist. Das sind jedoch bereits Bedingungen, unter denen die meisten Saatgutarten phytotoxische Störungen erleiden. Wenn bei derartigen Voraussetzungen pilzliche Reinkulturen in vitro nicht abgetötet werden, so ist natürlich bei pilzinfiziertem Saatgut ein Erfolg durch Ultraschalleinwirkungen noch weniger zu erwarten. Unsere Ergebnisse der Untersuchungen über die

Einschallung von Desinfektionsmitteln in Samen zur Abtötung von Bakterien ließen uns vermuten, daß bei pilzinfiziertem Saatgut ähnliche Resultate zu erzielen sind.

Als brauchbares Material für diese Versuche bot sich uns ein Zuckerrübensaatgut (normales Handels-Saatgut), das eine natürliche Infektion von *Phoma betae, Cercospora beticola, Alternaria* spec. und *Fusarium* spec. aufwies. Als Zusätze zur Kopplungssubstanz verwandten wir 8-Oxychinolinsulfat (Chinosol), Ceresan und Indolyl-3-Essigsäure. Durch umfangreiche Vorversuche hatte sich gezeigt, daß entsprechend der hornartigen Beschaffenheit des Saatgutes die Konzentration der Desinfektionsmittel gegenüber Tomatensamen wesentlich erhöht werden kann. Zum Vergleich der Einschallung dieser Mittel wurden Rübenknäuel 20 Minuten in Aqua bidest. als Kontrollen eingelegt. Zum Teil führten wir mit den Desinfektionsmitteln Tauchbeizen als weitere Vergleiche durch. Der Grad des Pilzbefalls wurde nach Auslegen der Knäuel auf Möhren-Agarplatten und nach Bebrütung bei 27 ° C beurteilt. In der Abb. 10 sind zwei derartige Platten aus einem dieser Versuche wieder-

Abb. 10. Fungizide Wirkung einer Einschallung eines Desinfektionsmittels. L i n k s unbehandelte Kontrolle, r e c h t s Einschallung von 0,5 % Chinosol als Zusatz zur Kopplungsflüssigkeit mit 6 W/cm² bei einer Frequenz von 800 kHz und 10 Minuten Beschallungszeit

gegeben. Die linke Schale zeigt bei unbehandeltem Saatgut „als Kontrolle" nach fünftägiger Bebrütung eine starke Pilzentwicklung. Die Samenknäuel der rechten Schale wurden mit 6 W/cm² und 0,5 % Chinosolzusatz 10 Minuten bestrahlt. Die sieben ausgelegten Knäuel weisen keine Pilzentwicklung auf. Die Abb. 11 zeigt zwei Schalen „Kontrollen" und zwei Schalen mit „höherer Intensität" (6 W/cm²) neben noch weiteren Variationen der Behandlung. Links sind zwei Schalen zu sehen, deren Samenknäuel einer Tauchbeize mit 0,5 % Chinosollösung für 20 Minuten unterworfen wurden. Die Agarplatten sind fast so stark wie die der „Kontrollen", rechts in der Abbildung, von den Pilzen überwuchert. Unmittelbar neben diesen beiden Schalen sind zwei

weitere zu sehen, bei denen die Knäuel unter Zusatz von 0,5 % Chinosol mit „geringer Intensität" (2 W/cm²) beschallt waren. Anscheinend sind die Pilze bei dieser Behandlung gegenüber den mit „höherer Intensität" bestrahlten nur stark geschwächt, aber nicht abgetötet, so daß sie sich mit starker Ver-

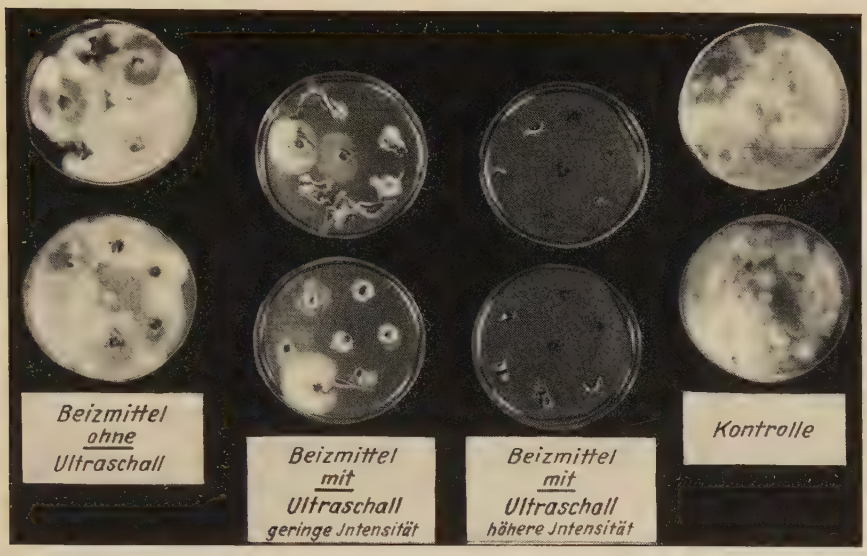


Abb. 11. Fungizide Wirkung der Einschallung eines Desinfektionsmittels im Vergleich zur Tauchbeize. Links Tauchbeize mit 0,5 % Chinosol bei einer Tauchzeit von 30 Minuten. Rechts daneben Einschallung von 0,5 % Chinosol mit 2 W/cm² bei einer Frequenz von 800 kHz und 10 Minuten Beschallungszeit. Daneben Einschallung von 0,5 % Chinosol mit 6 W/cm² bei gleicher Frequenz und Beschallungszeit. Ganz rechts unbehandelte Kontrollen

zögerung entwickelten. Wir erhielten bei allen Wiederholungen dieser und ähnlicher Versuche das gleiche Resultat. Es mußte demnach möglich sein, durch Einschallung geeigneter Desinfektionsmittel mit bestimmten Intensitäten und bei zweckmäßigen Beschallungszeiten pilzfreie Aufzuchten zu erhalten. Die Keimfähigkeit der in der hornartigen Substanz der Knäuel eingeschlossenen Samen hat, wie die erwähnten Agarplatten erkennen lassen, anscheinend durch die Beschallung in keiner Weise gelitten. Genauere Auskunft hierüber gibt die Tabelle 12.

In dem vorliegenden Versuch wurden 0,5 und 1 % Chinosol mit 6 W/cm² eingeschallt. Neben der Konzentration des Desinfektionsmittels variierten wir die Beschallungsdauer von 1 bis 30 Minuten. Als Vergleich diente eine Tauchbeize von 20 Minuten mit 0,5 und 1 % Chinosollösung und eine 20 Minuten in Aqua bidest. eingeweichte Kontrolle. Die Prozentzahlen der Keimfähigkeit in der Tabelle stellen Mittelwerte von sechs Wiederholungen mit je 100 Knäueln dar. Die Werte des Pilzbefalls entstammen ebenfalls sechs Wiederholungen mit allerdings nur je 28 Samenknäueln. Wir achteten hierbei nur auf Befall oder Nichtbefall und gaben den Befall in Prozent der in dem

Versuch einbezogenen Knäuel wieder. Die Keimfähigkeit wird selbst bei der Einschallung von 1 % Chinosol nicht entscheidend beeinflußt. Bei Verwendung von 0,5 % Chinosol, einer relativ hohen Konzentration, als Zusatz zur Kopplungsflüssigkeit wird anscheinend die Keimfähigkeit gefördert, wenn auch eine

Tabelle 12

Wirkung zunehmender Beschallungsdauer auf Keimfähigkeit und Pilzbefall von Zuckerrübenknäueln

Behandlung		Keimfähigkeit in %		Pilzbefall in % von 100 ausgelegten Knäueln waren befallen	
Art	Dauer	Chinosol 0,50 %	Chinosol 1,0 %	Chinosol 0,50 %	Chinosol 1,0 %
Kontrolle in Aqua bidest.	20 min	66,6		100,0	
Tauchbeize	20 min	68,3	67,5	36,0	28,0
Beschallung 6 W/cm²	1 min	68,6	64,6	13,5	5,3
	2 min	74,0	66,0	11,0	4,2
	3 min	76,0	64,6	11,5	2,0
	4 min	64,0	68,0	8,2	0,0
	5 min	64,9	66,0	7,0	0,0
	6 min	68,8	64,0	7,5	0,0
	7 min	70,6	74,6	5,0	0,0
	8 min	67,3	74,0	3,0	0,0
	9 min	66,6	68,0	3,7	0,0
	10 min	70,6	71,3	2,0	0,0
	15 min	65,3	68,6	0,0	0,0
	30 min	72,6	65,0	0,0	0,0

klare Abhängigkeit von der Beschallungszeit nicht zu erkennen ist. Diese Tatsachen sprechen für die bereits obenerwähnte relative Unempfindlichkeit des Rübensaatgutes, da seine Keimfähigkeit bis zu einer Beschallung von 30 Minuten mit 6 W/cm² nicht verringert wird. Allerdings treten bei Einschallung von 1 % Chinosol, einer relativ hohen Konzentration des Desinfektionsmittels, Schäden auf. Die bei der Keimung hervortretende Wurzelspitze ist bräunlich gefärbt und stirbt ab. Die Tauchbeize mit Chinosol verhält sich hinsichtlich des Einflusses auf die Keimfähigkeit ähnlich wie die Einschallung des Desinfektionsmittels. Im großen und ganzen sind keine besonders auffallenden Unterschiede des Keimverhaltens festzustellen, während hinsichtlich der Verpilzung des Saatgutes recht starke Beeinflussungen auftraten. Bei der Kontrolle sind alle Knäuel verpilzt. Die Tauchbeize verringert den Befall auf 36 und 28 %, wobei natürlich die höhere Konzentration des Desinfektionsmittels den niedrigsten Befallswert hervorrief. Viel wirksamer zeigt sich die Einschallung des Mittels. Vor allem trifft das für die höhere Konzentration von Chinosol (1 %) in der Kopplungssubstanz zu. Bereits 4 Minuten Beschallungszeit gewährleisteten die sichere Abtötung der Konidien und des Pilzmyzels in dem Saatgut. Um das gleiche Ziel mit niedrigerer Konzentration

(0,5 %) zu erreichen, sind 15 Minuten Beschallungsdauer erforderlich. Aber auch die Wirkung der kürzeren Beschallungszeiten hebt sich deutlich von dem Ergebnis der Tauchbeize ab.

Die graphische Darstellung, Abb. 12, zeigt den Keimverlauf von beschallten und gebeizten Zuckerrübenknäueln und den nachträglichen Ausfall erkrankter Sämlinge. Das gebeizte Saatgut, das 20 Minuten in eine 0,5%ige Chinosollösung getaucht wurde, läßt wohl eine höhere Keimgeschwindigkeit und auch höhere Keimprozente (60,5 %) gegenüber den beschallten Knäueln (54,0 %) erkennen. Letztere waren 10 Minuten mit 6 W/cm² in einer Chinosollösung gleicher Konzentration als Kopplungsflüssigkeit bestrahlt worden. Am 31. Januar erkrankten die ersten Sämlinge des gebeizten Saatgutes, und am 2. Februar waren bereits 6,8 % der Keimpflanzen den pilzlichen Krankheitserregern (hauptsächlich *Phoma betae*) erlegen. Die Zahl der abgestorbenen Pflanzen erhöhte sich weiter und erreichte bis zum 2. März 35,5 %, d. h. 58,5 % der aufgelaufenen Sämlinge. Die Pflanzen der beschallten Knäuel zeigten bis dahin nur einen Ausfall von 1 %, das bedeutet 0,45 % aller gekeimten Sämlinge. Nach diesen Versuchen muß es als sicher gelten, daß die Güte des Saatgutes nicht allein durch die Keimfähigkeit festgestellt werden kann, sondern daß der Schädigungsgrad der parasitischen Pilze und Bakterien eine große Rolle spielt. Eventuell durch die Behandlung geschwächte Mikroorganismen entwickeln sich in vivo langsam, aber beständig zu einer erneuten Gefahr des Saatgutes. Deshalb muß das Ziel der Behandlung die konsequente Abtötung der Schadorganismen sein.

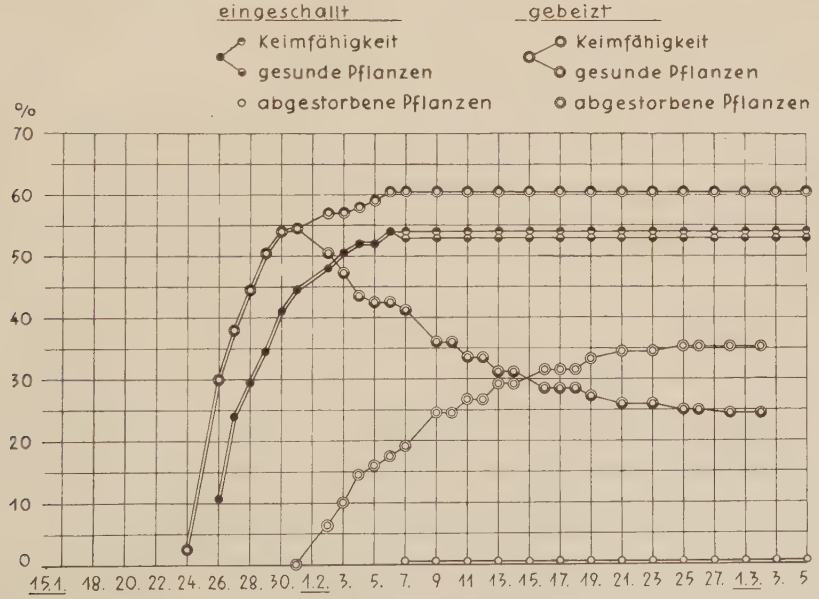


Abb. 12. Wirkung der Einschallung von 0,5 % Chinosol bei einer Intensität von 6 W/cm² und einer Beschallungszeit von 10 Minuten im Vergleich zur Wirkung einer Tauchbeize in 0,5 % Chinosol bei einer Tauchzeit von 20 Minuten auf Keimverlauf und Gesundheitszustand (bzw. Mortalität) der Keimlinge

6. Freilandanbau- und Ertragsversuche mit Zuckerrüben nach Aussaat beschallter Rübenknäuel

Die Keim- und Aussaatversuche hatten gezeigt, daß eine Beeinflussung der Keimfähigkeit und der Keimgeschwindigkeit für den Gesundheitszustand und den späteren Ertrag bei Zuckerrübenaussaaten nicht allein maßgeblich sein können. Es kommt vor allem auf den Grad der Abtötung der in der hornartigen Substanz der Knäuel vorhandenen parasitischen Pilze an. Je vollständiger deren Schädigung durch die Desinfektionsmittel und durch die Methode der Behandlung ist, um so sicherer ist der Erfolg. Selbst Einbußen an Keimfähigkeit können sich, wie der obige Versuch zeigt, durch geringe Mortalität der gelaufenen Sämlinge später positiv auswirken. Allerdings sind für eine sichere Beurteilung dieser Verhältnisse längere Beobachtungszeiten erforderlich, so daß Feldversuche unerläßlich schienen. Sie bieten die Möglichkeit, die Wirkung der Einschallung von Fungiziden auf das Wachstum während der ganzen Vegetationsperiode und auf den Ertrag festzustellen. Auch der Erscheinung einer von STOCKEBRAND (1952) beobachteten stärkeren „Beinigkeit" der Rüben durch Beschallung kann bei dieser Gelegenheit nachgegangen werden. — Wir führten einen Feldversuch auf dem Gelände der Technischen Hochschule in Hannover-Herrenhausen und parallel hierzu einen solchen auf dem Versuchsfeld der Klein-Wanzlebener Saatzucht A. G. in Einbeck durch. Das Saatgut einer Sorte „Klein-Wanzlebener N" wurde uns freundlicherweise von der genannten Firma zur Verfügung gestellt. Als Zusätze zur Koplungssubstanz verwandten wir Chinosol, Ceresan und Indolyl-3-Essigsäure. Die Einschallungsdauer wurde bei den einzelnen Mitteln von 10 bis 30 Minuten variiert. Als Kontrolle der Behandlung dienten Rübenknäuel, die 20 Minuten in Aqua bidest. eingequollen waren. Die Temperatur des Wassers wie auch die der Kopplungssubstanz wurde auf 18 bis 20 ° C gehalten. Bei der Aussaat legten wir die Knäuel einzeln auf Parzellen von je 2 × 5 m aus, so daß 100 Aussaatstellen je Parzelle in einer jeweiligen Entfernung von 40 × 25 cm vorhanden waren. Um die Versuchsfläche säten wir Randreihen, die nicht in die Ernte und Auswertung einbezogen wurden. Den Versuch führten wir in sechsfacher Wiederholung durch. Die Aussaat fand vom 8. bis 10. April 1953 und die Ernte vom 5. bis 8. Oktober 1953 statt. Das Ergebnis wie auch die Variationen der Behandlung sind im einzelnen aus der Tabelle 13 zu ersehen.

Allerdings müssen wir für die Beurteilung der Ergebnisse hervorheben, daß es sich um einen nur während einer Vegetationsperiode durchgeführten Versuch handelt. Außerdem litt der Versuch durch Arbeitskraftmangel, so daß zeitweilig der ganze Bestand von Unkraut überwuchert war. Aus diesem Grunde kann die absolute Zahl der geernteten Rüben und das absolute Erntegewicht der Parzellen und der Einzelrübe nicht mit Normalanbau- und Normalernteergebnissen verglichen werden. Alle Parzellen litten jedoch gleichmäßig unter der Ungunst der Verhältnisse, so daß innerhalb des Versuches die relativen Werte gewisse Allgemeingültigkeit durch die sechsfache Wiederholung erlangen.

Tabelle 13

Wirkung der Einschallung von Desinfektionsmitteln und Wuchsstoff auf den Bestand und Ertrag von Zuckerrüben im Feldversuch

Behandlung			Zahl d. Rüben (Mittelw. aus 6 Parzellen)		Erntegewicht Mittelw. aus 6 Parzell.		Mittleres Erntegewicht je Einzelpfl.	
Art	Zusätze	Dauer	absolut	relativ	absolut kg	relativ	absolut kg	relativ
Kontrolle	Aqua bidest.	20′	50,3	100	31,9	100	0,634	100
Beschallung 6 W/cm²	Aqua bidest.	10′	43,1	85,7	27,5	86,2	0,638	100,6
		20′	50,0	99,4	30,0	94,0	0,600	94,6
		30′	45,3	90,1	29,4	92,2	0,649	102,4
	Indolyl-Essigsäure 0,001 %	10′	44,2	87,9	33,9	106,3	0,767	121,0
		20′	45,2	89,9	34,7	108,8	0,768	121,1
		30′	48,8	97,0	36,8	115,4	0,754	118,9
	Ceresan 0,5 % + Indolyl-Essigsäure 0,0001 %	10′	75,3	149,7	38,5	120,7	0,511	80,6
		20′	61,7	122,7	36,7	115,0	0,595	93,8
		30′	61,8	122,9	36,7	115,0	0,594	93,7
	Chinosol 0,5 % + Indolyl-Essigsäure 0,0001 %	10′	61,7	122,7	42,0	131,7	0,681	107,4
		20′	65,3	129,8	34,3	135,7	0,663	104,6
		30′	48,2	95,8	34,5	108,2	0,716	112,9

Gegenüber der Kontrolle vermindert die Beschallung mit Aqua bidest. und mit Indolyl-Essigsäure die Zahl der Rüben je Parzelle. Bei Beschallung ohne Zusätze in Aqua bidest. liegen die Werte mit 20 Minuten Beschallungsdauer etwas günstiger als bei 10 und 30 Minuten Bestrahlung. Möglicherweise wird durch kurzdauernde Beschallung (10 Minuten) ohne Zusatz mit der relativ niedrigen Intensität von 6 W/cm² das Pilzwachstum angeregt, während die längere Beschallungsdauer (30 Minuten) bereits die Keimlinge schädigt. Bei Indolyl-Essigsäure-Zusatz zur Kopplungssubstanz sehen wir eine Zunahme der Rübenanzahl mit Verlängerung der Beschallungszeit, was einer Abnahme der Schädigung mit Verlängerung der Bestrahlung entspricht. Diese Verhältnisse ändern sich sofort, sobald ein Desinfektionsmittel der Kopplungsflüssigkeit zugesetzt wird. Wir können unter diesen Bedingungen eine weit günstigere Wirkung der kürzeren Beschallung (bei Ceresan 10 Minuten, bei Chinosol

20 Minuten) feststellen. Dagegen führt die längere (30 Minuten) Beschallung mit Chinosol zu Schäden und mit Ceresan zu einer Förderung gegenüber der Kontrolle. Die günstige Wirkung der Einschallung der Desinfektionssmittel neben Indolyl-Essigsäure ist vor allem aus den relativen Werten zu ersehen, bei denen die mittlere Rübenanzahl von sechs Parzellen der Kontrolle gleich 100 gesetzt wurde. Gegenüber den Kontrollparzellen ergibt sich bei 10 Minuten Beschallung mit Ceresanzusatz ein um 49,7 % und bei 20 Minuten Beschallung mit Chinosolzusatz ein um 29,8 % besserer Bestand an Rüben je Parzelle.

Das absolute Erntegewicht je Parzelle, d. h. das Gesamtgewicht der Rüben je Behandlung verhält sich ähnlich wie die Rübenanzahl. Zunächst ist auffallend, daß die Bestrahlung mit Aqua bidest. nicht nur die Zahl der Rüben, sondern auch das absolute Erntegewicht vermindert. Die Wuchsstoff-Einschallung erhöht dagegen bei fast allen Bestrahlungszeiten (10, 20 und 30 Minuten) den Ertrag im gleichen Verhältnis wie die Rübenanzahl. Hierbei liegen die Einzelwerte höher als bei der Kontrolle. Diese allgemeine Steigerung des Ertrages bei dieser Behandlungsart muß zum großen Teil auf einer direkten Wuchsstoffwirkung beruhen. Die zusätzliche Einschallung von Desinfektionsmitteln bringt bei Ceresan und Chinosol in Abhängigkeit von der Beschallungsdauer gleichsinnige Veränderungen des Ertrages wie bei der Rübenzahl je Parzelle. Im ganzen betrachtet haben wir bei der Bestrahlung ohne Zusatz anscheinend Schädigungen und bei Wuchsstoffeinschallung eine Förderung, die bei Hinzufügung von Desinfektionsmitteln durch starke Beeinträchtigung der parasitischen Pilze einen noch höheren Wert erreicht. Den Bestwert liefert Chinosol + Indolyl-3-Essigsäure-Einschallung bei 20 Minuten Bestrahlungsdauer.

Auch aus den absoluten und relativen Erntegewichten je Einzelrübe in den beiden letzten Spalten der Tabelle 13 geht hervor, daß Wuchsstoff und Chinosol + Wuchsstoff den Ertrag zu steigern vermögen. Etwas abfallend erscheinen die Werte für das Gewicht der Einzelrübe nach Einschallung von Ceresan + Wuchsstoff. Nur wenn wir gleichzeitig die Zahl der Rüben je Parzelle berücksichtigen, bekommen wir eine bessere Einsicht in die tatsächliche Wirkung dieses Beizmittels. Die Zahl der Rüben ist, namentlich bei 10 Minuten dauernder Beschallung, so stark erhöht, daß infolge der Raum- und Nährstoffkonkurrenz das Gewicht der Einzelrübe geringer sein muß als bei den übrigen Versuchsvarianten mit geringerer Rübenanzahl je Parzelle. Immerhin wirkt, auch bei Berücksichtigung dieser Tatsache, Chinosol + Wuchsstoff anscheinend etwas günstiger, denn wir haben bei gleicher Pflanzenanzahl je Parzelle (61, 7 Pflanzen) bei 20 Minuten Beschallung mit Ceresan + Indolyl-Essigsäure und bei 10 Minuten Beschallung mit Chinosol + Indolyl-Essigsäure ein besseres Resultat im letzten Falle mit einem absoluten Rübengewicht von 681 g gegenüber 595 g bei Ceresan. Die Einzelwerte dieser Reihen mit Einschallung von Desinfektionsmitteln lassen sich leider nicht ohne Bedenken mit denen einer Beschallung in Aqua bidest. und Indolyl-Essigsäure vergleichen, da die Rübenanzahl je Parzelle zu unterschiedlich ist. Das gleiche gilt für eine Gegenüberstellung mit der Kontrolle. Wir gingen bei unserer Betrachtung vom patho-

logischen Standpunkt aus, wobei uns zunächst die Anzahl der gesunden Rüben mehr interessierte als der Ertrag. Zweifellos müßten diese Feldversuche bei gleichem Abstand und gleicher Zahl der Rüben auf den Parzellen durchgeführt werden, um definitiv etwas über die Ertragsbeeinflussung aussagen zu können.

Daß jedoch die Beurteilung der Tendenz richtig ist, können wir mit der Gegenüberstellung der besprochenen Ergebnisse aus dem Versuch von Herrenhausen mit dem parallel laufenden Feldversuch der Klein-Wanzlebener Saatzucht A.G. belegen. Der Einfachheit halber stellten wir nur die absoluten und relativen Erträge der Einzelrüben beider Versuche gegenüber.

Tabelle 14

Rübenversuche in Hannover und Einbeck. Gegenüberstellung der Ultraschallwirkung auf Rübenknäuel in zwei Parallelversuchen

Behandlung			Mittleres Erntegewicht einer Rübe in Gramm			
			Herrenhausen		Einbeck	
Art	Zusätze	Dauer	absolut	relativ	absolut	relativ
Kontrolle	Aqua bid.	20 min	634	100	701	100
Beschallung 6 W/cm²	Aqua bid.	10 min	638	100,6	674	96,1
		20 min	600	94,6	637	90,9
		30 min	649	102,4	642	91,6
	Indolyl-Essigs. 0,0001 %	10 min	767	121,0	723	103,1
		20 min	768	121,1	762	108,7
		30 min	754	118,9	770	109,8
	Ceresan 0,5 % + Indolyl-Essigs. 0,0001 %	10 min	511	80,6	587	83,7
		20 min	595	93,8	637	90,9
		30 min	594	93,7	634	90,4
	Chinosol 0,5 % + Indolyl-Essigs. 0,0001 %	10 min	681	107,4	716	102,1
		20 min	663	104,6	779	111,1
		30 min	716	112,9	776	119,0

Von russischer Seite (Dawydow 1940) war eine Erhöhung des Zuckergehalts nach der Beschallung von Rübenknäueln um 45 % festgestellt worden. Im Anschluß an unsere Versuche in Herrenhausen und Einbeck prüften wir auch den Zuckergehalt der Rüben. Die Analysen wurden freundlicherweise von der Klein-Wanzlebener Saatzucht durchgeführt. Die erhaltenen Werte schwankten außerordentlich, so daß mit Sicherheit keine Tendenz zu erkennen war. Auf keinen Fall gaben uns die erhaltenen Werte die Möglichkeit, die russischen Ergebnisse zu bestätigen.

Unsere Versuche versetzten uns außerdem in die Lage, der Frage der von Stockebrand festgestellten Förderung der Beinigkeit der Rüben durch Ultraschall nachzugehen. Es handelt sich hierbei um eine Wachstumsstockung

der durchgehenden Pfahlwurzel, deren Funktion in solchem Falle von mehreren durchtreibenden Seitenwurzeln übernommen wird. Bei der Ernte solcher Rüben erhöhen sich die Ernteverluste durch Abreißen der Wurzeln im Boden. Außerdem nehmen die Schmutzprozente bei der Verarbeitung zu, so daß diese beinigen Rüben weder vom Landwirt noch vom Technologen geschätzt werden. In unseren Versuchen hatten wir in keinem Fall bei den Parzellen, deren Rüben aus beschallten Knäueln aufgezogen waren, einen höheren Prozentsatz an Beinigkeit als bei den Kontrollen. Die Werte schwankten zwischen 1,5 und 1,8 % und dürften damit den Prozentsatz beim normalen Rübenanbau nicht überschreiten. Wenn wir in diesem Falle STOCKEBRAND nicht bestätigen konnten, so lag das an unserer andersartigen Versuchsanstellung. Wir arbeiteten bei obigen Versuchen ausschließlich mit nicht vorgequollenem Saatgut, das in Variationen beschallt wurde, während STOCKEBRAND vorgequollene Rübenknäuel bestrahlte. Um die Ursache dieses unterschiedlichen Verhaltens festzustellen, beschallten wir Sämlinge und auch 24 Stunden vorher gequollenes Saatgut 30 Minuten mit 6 W/cm². Es zeigte sich, daß die Wurzelvegetationspunkte sowohl bei den Sämlingen als auch bei den Embryonen der vorgequollenen Rübenknäuel geschädigt wurden, so daß sie sich später braun färbten. Anschließende Vegetationsversuche zeigten, daß bei diesen Rüben die Seitenwurzeln kräftig durchtrieben. Bei 60 Minuten Bestrahlung mit 18 bis 20 W/cm² in 2%iger Chinosollösung als Kopplungsflüssigkeit konnte eine Erhöhung der Beinigkeit bis 75 % beobachtet werden. Es ist somit möglich, den von STOCKEBRAND festgestellten Effekt durch eine entsprechend starke Bestrahlung zu induzieren.

D. Besprechung der Ergebnisse

In den letzten zwei Jahrzehnten hat der Ultraschall in der Wissenschaft und Technik zunehmende Anwendung gefunden. Er wird in der Physik und Technologie in mannigfaltiger Weise zu aufschlußreichen Untersuchungen herangezogen und vielfach mit wirtschaftlichem Vorteil technisch verwandt. In der Chemie hat seine Nutzung insbesondere für präparative Arbeiten eine große Bedeutung erlangt. Neuerdings sind die Untersuchungen seiner Wirkung auch auf biologische Objekte ausgedehnt worden, ohne bisher auf diesem Sektor eine so breite technische und wirtschaftliche Auswertung zu erreichen. Nur auf den verschiedenen Gebieten der Humantherapie erlangte die Einführung des Ultraschalls eine zunehmende Beachtung. In der Biologie verwandte man als Objekt der Beschallung vielfach Bakterien, wobei das Interesse an humanpathogenen Bakterien überwog. Seltener wurde die Ultraschallwirkung auf Pilze, Samen, Früchte und Fruchtstände untersucht. Auch hinsichtlich der Beeinflussung von Geweben interessierte vor allem die humantherapeutische Nutzung des Ultraschalls. So wurde häufiger die Wirkung der Bestrahlung auf tierische als auf pflanzliche Gewebe untersucht.

Beim Vergleich der Arbeiten auf dem biologischen Sektor findet man neben positiven ebenso oft negative Einwirkungen. Vielfach widersprechen

sich die Angaben über die Wirkung, selbst bei Verwendung gleicher Objekte. Eine Reproduktion der Versuche ist meist infolge ungenauer oder fehlender Angaben über Intensität, Frequenz, Beschallungszeit, Kopplungssubstanz usw. nicht möglich. Selbst wenn die abgestrahlte Ultraschallintensität angegeben ist, können bei gleichem Objekt wegen der schwer feststellbaren Absorption, Reflexion und Interferenz kaum Rückschlüsse auf die tatsächlich wirksame Intensität gezogen werden. Deshalb ist, neben der Angabe über Intensität und Frequenz, eine genaue Beschreibung der Versuchsanordnung erforderlich. Da meist diese Voraussetzungen zur Reproduktion der Versuche zuwenig beachtet werden, sind selbst bei relativ einfachen Objekten, bei Bakterien in vitro, die Ergebnisse kaum vergleichbar. Mehrfach trat Letalität aller beschallten Bakterien ein (Harvey und Loomis 1929, French 1940, Veltmann und Woeber 1949 und 1950), zuweilen ergab sich jedoch nur eine Abnahme der Keimzahl (Williams und Gaines 1930), während in anderen Fällen (Füchtbauer und Theismann 1949) wieder eine stärkere Vermehrung der Bakterien nach der Beschallung beobachtet wurde.

Aus der großen Zahl der Arbeiten ist jedoch zu schließen, daß bei genügend langer Beschallungsdauer und hoher Intensität und anscheinend auch bei hoher Frequenz, wie Akiyama (1936) bei Bestrahlung mit 4,6 MHz zeigen konnte, Abtötung von Bakterien in vitro möglich ist. Wir erreichten Letalität von *Bacterium michiganense* bei Intensitäten von 18 bis 20 W/cm², einer Frequenz von 800 kHz und einer Beschallungsdauer von 20 Minuten. Die Wirkung beruht nach Untersuchungen von Williams und Gaines (1930), Yen und Liu (1934), Akiyama (1936), Hamber (1949) u. a. auf einem Zerreißen oder Zerplatzen der Bakterienzellen. Veltmann und Woeber (1949), Theismann und Wallhäuser (1950), Knapp (1952) u. a. weisen diesen Effekt durch elektronenmikroskopische Aufnahmen nach. Grabar und Rouyer (1945), Loiseleur (1945), Veltmann und Woeber (1949), Hamber (1949) und Küster und Theismann (1949) sind der Ansicht, daß die Zerstörung durch einen Kavitationseffekt ausgelöst wird. Als weiterer Faktor kommt nach Füchtbauer und Theismann (1949) eine thermische Wirkung hinzu. Sicherlich spielt sie nur eine untergeordnete Rolle, wie Martischnig (1952) wahrscheinlich machen konnte. Hompesch (1949) glaubt indessen, daß als weiterer wesentlicher Effekt eine mechanische Dispersität der Plasmakolloide hinzukommt, die zu einer Auflösung von Zellbestandteilen und zu einer Zunahme löslicher Stickstoffverbindungen führt. Nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen von Knapp (1952) beginnt die Schädigung stäbchenförmiger Bakterien an den Zellpolen mit einer Loslösung des Zytoplasmas von der Membran, ein Vorgang, der sich dann auf die ganze Breite der Zellwand erstreckt. Später erfolgt Zerstörung der Membran und Zertrümmerung des Bakterienleibes. Die Letalwirkung ist allerdings bei den einzelnen Bakterienarten unterschiedlich, ja selbst bei gleicher Art gibt es Stämme, die sich verschieden resistent verhalten. Die Zerstörung ist jedoch, wie oben erwähnt, nur bei hohen Intensitäten oder auch bei sehr hohen Frequenzen (Akiyama 1936) zu erreichen. Kurzfristige Beschallung mit höheren oder längere mit niedrigen Intensitäten führen zu einer Förderung des Bak-

terienwachstums. Dieser von FÜCHTBAUER und THEISMANN (1949), HOMPESCH (1949 und 1950), BECKWITH und WEAVER (1936), YAWOI und NAKAHARA (1934) u. a. beobachtete Effekt konnte auch in unseren Versuchen mit *Bacterium michiganense* bei Ultraschallintensitäten von 2 bis 4 W/cm² festgestellt werden. BECKWITH und WEAVER, außerdem YAWOI und NAKAHARA sowie VELTMANN (1951) führen diese Wirkung auf eine mechanische Trennung der Kolonien in Einzelbakterienzellen zurück, von denen jede dann in dem umgebenden Nährboden ungehemmt eine neue Kolonie bilden kann. HOMPESCH (1949 und 1950) ist ähnlicher Ansicht, sieht jedoch die Ursache in einer Dispersion der die einzelnen Bakterienzellen umgebenden Kolloide, durch welche sie anfänglich im Kolonieverband gehalten werden. Bei Streptococcen (FÜCHTBAUER und THEISMANN 1949) zerfallen die Ketten, und bei Sarcinen zerplatzen die paketartigen Kolonien. Im allgemeinen beobachtet man daher bei beschallten Bakteriensuspensionen eine Abnahme des Trübungsgrades.

Die bakterizide Wirkung des Ultraschalls ist neben der Intensität und der Einwirkungszeit von dem Suspensionsmittel abhängig, in welchem sich die Bakterien befinden. Während in einer mit Aqua bidest. verdünnten Aufschwemmung von *Bacterium michiganense* eine 30-Minuten-Beschallung mit 18 bis 20 W/cm² ausreicht, um fast alle Keime abzutöten, ist in flüssigem Bouillon-Nährboden etwa die doppelte Ultraschallintensität (etwa 30 bis 40 W/cm²) erforderlich. Eine entsprechende Abhängigkeit vom Suspensionsmittel fand auch VELTMANN (1951) bei der Einwirkung des Ultraschalls auf Gonococcen und Tuberkelbazillen. Anscheinend sind die bei der Beschallung entstehenden Kavitationsvorgänge in den einzelnen Suspensionsmitteln verschieden. Der Kavitationseffekt findet vornehmlich an der Oberfläche der Bakterienzellen statt, da die molekulare Bindung in der Nährlösung größer ist als die Bindung der Flüssigkeitsteilchen an der äußeren Bakterienwand. HORTON (1953) konnte durch Zusatz von oberflächenaktiven Stoffen (Pepton, Glycin, Leucin u. a.) die Kavitation und damit den Abtötungsgrad der Bakterien vergrößern. Die Eiweiß- und Mineralsalzzusätze haben einen Einfluß auf die während der Beschallung entstehenden indirekt chemischen und kolloid-chemischen Vorgänge (HOMPESCH 1949 und VELTMANN 1951). Außerdem ist noch hervorzuheben, daß durch Zusätze zur Bakteriensuspension die Schallabsorption erhöht werden kann, so daß sich mit steigender Konzentration die wirksame Ultraschallintensität bei gleichbleibender Bestrahlung verringert.

Durch jede weitere Verdichtung des Mediums, in welchem sich die Bakterien befinden, tritt Abnahme der Ultraschalleistung ein. VELTMANN und WOEBER (1949) setzten weiche, mit Tuberkelbazillen infizierte Gewebestücke von Leber, Milz und Lunge in Wasser als Kopplungssubstanz den Ultraschallwellen aus. Bestrahlungen mit einer Intensität von 3,2 W/cm² für 16 bis 100 Minuten, die sich in vitro als letal erwiesen, reichten in vivo, in den Gewebestücken, nicht aus, die Keime zu schädigen.

Eine 6-Minuten-Bestrahlung mit 18 bis 20 W/cm², die *Bacterium michiganense* in vitro abzutöten vermag, bewirkt keine Schädigung, wenn die Bakterien sich unter der Samenschale befinden. Die Abtötung von Bakterien

in vivo erfordert, sofern sie überhaupt möglich ist, erheblich höhere Ultraschallintensitäten als ihre Zerstörung in Reinkulturen. Es spielen hierbei Absorptionen und Reflexionserscheinungen der Ultraschallwellen an und unter der Samenschale eine erhebliche Rolle, so daß die Differenz der abgestrahlten Intensität und der tatsächlich auf die Bakterien wirksamen außerordentlich groß ist.

Ähnlich wie mit Bakterien verhält es sich mit Pilzen. Es gelang Beckwith und Olson (1931), Beckwith und Weaver (1936), Euler und Skarzynski (1943), Specht und Reuss (1952), Förster und Holste (1937) und Hamber (1949), durch Beschallung in vitro Hefezellen abzutöten, während sich nach Untersuchungen von Schumacher (1951), Kaibara (1949) und Küster und Theismann (1949) Schimmelpilze als widerstandsfähig erwiesen. Unsere Versuche mit pflanzenpathogenen Pilzen, wie *Pestalozzia guëpini, Thielavia basicola, Botrytis parasitica, Alternaria spec.* und *Fusarium spec.* hatten gezeigt, daß bei Beschallung in vitro die Abtötung von Sporen mit einer Intensität von 20 W/cm² und einer Beschallungsdauer von 30 Minuten nicht zu erreichen ist. Infolgedessen müßten in vivo, bei Beschallung der parasitischen Pilze im Wirtspflanzengewebe, noch viel höhere Intensitäten aufgewendet werden als bei Bakteriensuspensionen. Das uns vorschwebende Ziel war die Abtötung pilzlicher und bakterieller Krankheitserreger ohne Schädigung der Wirtspflanze mit Hilfe des Ultraschalls. In Anlehnung an die Chemo-Therapie können wir von einer Dosis curativa (c) der Beschallung sprechen, bei welcher der Parasit noch gerade abgetötet wird, und von einer Dosis toxica (t), welche bei steigender Intensität die ersten wahrnehmbaren Schädigungen an den Pflanzen hervorzurufen vermag. „c" muß möglichst klein, „t" dagegen groß sein. Je weiter die Spanne zwischen beiden Größen ist, um so brauchbarer ist die Methode. Über die Art der schädigenden Wirkung des Ultraschalls auf Pflanzenzellen liegen zahlreiche Untersuchungen vor (Harvey und Loomis 1928, Hercik, Hrdlicka und Sprinderich 1942, Yamaha und Ueda 1939, Berents 1948 u. a.). Während niedrige Ultraschallintensitäten eine Steigerung der Bewegung im Zellinnern auslösen, bewirken höhere Intensitäten, wie bei den Bakterien, eine Ablösung des Protoplasmas von den Zellwänden. Der Zellkern wird hyalin, die Nucleolen treten deutlich hervor, schließlich platzt der Zellkern, um dann zusammenzuschrumpfen. Alle diese Strukturmodifikationen lassen sich wahrscheinlich auf thermische und mechanische Wirkungen der hochfrequenten Schwingungen zurückführen. So konnten Yamaha und Ueda 1939) bei der Einwirkung des Ultraschalls auf die Wurzelspitzen von *Vicia faba* alle möglichen Struktur- und Mitose-Anomalien feststellen, wie sie auch durch heißes Wasser von 35 bis 40° C verursacht werden. Bei intensiver Ultraschallbestrahlung von Samen verliert die Radicula ihre weiße Farbe und wird trüb, glasig und durchsichtig. Es findet eine Homogenisierung der inneren Brechungsindexkomponenten statt. Zellmembran, Kern- und plastische Inhaltskörper verlieren ihre leicht reflektierenden Grenzen, da es zu einer mikrodispersen Verteilung kommt. Bei mikroskopischer Beobachtung sind die Zell-

zerreißungen, die offenbar durch intrazellulare Kavitation hervorgerufen werden, leicht festzustellen.

STOCKEBRAND (1952) beschallte Rübenkeimlinge mit einer Frequenz von 175 kHz, einer Intensität von 5 W/cm² und einer zunehmenden Bestrahlungsdauer, wobei die Temperatur der Kopplungsflüssigkeit auf 20 ° C gehalten wurde. Bei 5 Minuten Ultraschalleinwirkung traten im nachfolgenden Vegetationsversuch anfängliche Wachstumsstockungen auf, die jedoch bald aufgehoben wurden. Anschließend standen die behandelten Pflanzen besser als die Kontrollen. Mit Verlängerung der Beschallungszeit auf 10 bis 180 Minuten nahmen die Schäden zu. Die Pflanzen zeigten schlechteres Wachstum und einen geringeren Ertrag. Eine durchgehende Pfahlwurzel wurde bei Sämlingen beschallter Pflanzen nicht ausgebildet. Dagegen nahm die Zahl der Seitenwurzeln mit Verlängerung der Beschallungszeit zu. Das Wachstum dieser Wurzeln schien jedoch stark gehemmt zu sein. Ebenso verhielt sich 48 Stunden in Wasser eingequollenes Saatgut, das 15 bis 20 Minuten mit 5 oder 2 W/cm² beschallt wurde, bei feldmäßigem Anbau. Die Rüben der aus beschalltem Saatgut stammenden Pflanzen waren beinig und brachten geringe Erträge. Wir konnten die Versuche bei einer Frequenz von 800 kHz und einer Intensität von 2 und 6 W/cm² rekonstruieren und fanden die Angaben von STOCKEBRAND bestätigt. Die Zunahme der Beinigkeit beruht auf einer Zerstörung des Wurzelmeristems der primären Wurzel. Schon kurze Zeit nach der Beschallung stirbt das Meristem unter Braunfärbung ab. Da wir in unseren Hauptversuchen mit ungequollenem Saatgut und nur mit kurzen Beschallungszeiten arbeiteten, zeigte sich in den erwähnten Versuchen keine Zunahme der Beinigkeit der Rüben. Noch empfindlicher waren die Tomatensämlinge, die schon bei Intensitäten von 2 W/cm² starke Schädigungen aufwiesen. Auch der Same der Tomaten erwies sich empfindlicher als das Rübensaatgut. Wir beschallten im allgemeinen den Tomatensamen mit geglättetem Gleichstrom und einer konstanten Intensität von 6 W/cm². Hierzu diente das Laboratoriumsgerät T 70. Den gleichen Effekt hatten wir mit einem größeren Gerät T 3000, dessen Beschallungsgefäß bei 30 Liter Fassungsvermögen die Bestrahlung von 1 kg Saatgut gestattete (Abbildung 13). Das Beschallungsgefäß war nach unseren Angaben so konstruiert, daß die gleichen Verhältnisse wie bei

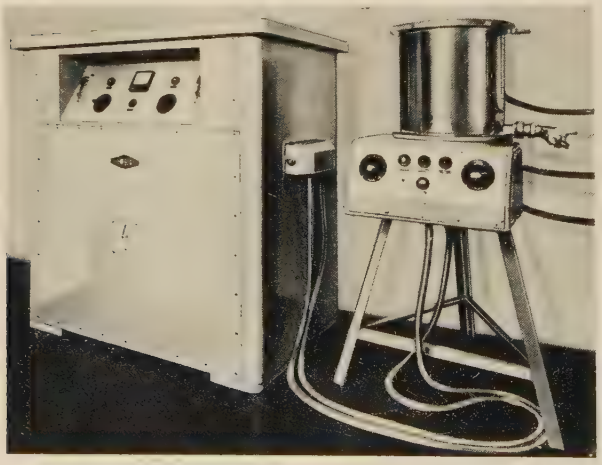


Abb. 13. Ultraschallgerät T 3000: Links Generator, rechts Beschallungsgefäß mit demontiertem Rührwerk (Werkaufnahme der Firma Dr. Lehfeld & Co.)

dem T 70 vorlagen. Der Boden des Gefäßes bestand aus einem Mosaik von 18 piezoelektrischen Quarzen. Auch dieses Gerät fuhren wir mit geglättetem Gleichstrom. Bei Beschallung des Tomatensamens mit dem technischen Gerät T 150, das mit Doppelwellenwechselstrom arbeitete, traten infolge der Intensitätsschwankungen Schäden an Tomatensamen auf. Dagegen vertrug das Rübensaatgut die Schwankungen ohne irgendwelche Störungen. Die hornartige Masse der Knäuel schirmt in diesem Falle Samen und Embryo im Schallfeld vor zu starker Wirkung der hochfrequenten Schwingungen.

Die Ausführungen lassen erkennen, daß die Dosis toxica (t), auch bei den Ruhestadien der Pflanzen, Rübenknäuel und Tomatensamen kleiner ist als die Dosis curativa (c), welche die parasitischen Bakterien und Pilze in vivo noch abzutöten vermag. Der therapeutische Index c/t ist infolgedessen um ein Vielfaches größer als 1. Die Methode ist daher zur Abtötung pflanzenpathogener Bakterien und Pilze im Wirtspflanzengewebe nicht anwendbar.

Frenzel, Hinsberg und Schultes (1933) stellten im Ultraschallfeld eine Steigerung der Diffusionsgeschwindigkeit für Wasser und Salzlösung durch permeable Pergamentmembranen von 35 bis 69 % fest. Die Autoren fassen ihre Untersuchungen dahingehend zusammen, daß die „Ergebnisse daran denken lassen, daß neben dem Schwingungsvorgang der kleinen Teilchen auch eine Schubwirkung in der Richtung des Schallfeldes im Spiel ist". Wuttge (1949) fand dagegen bei elektrischer Bestimmung der Membran-Permeabilität unter der Einwirkung von Ultraschallwellen nur geringfügige Änderungen, kommt jedoch zu dem Schluß, daß es nicht ausgeschlossen ist, daß bei solchen Molekülen, deren Größe mit der Porenweite der Membran übereinstimmt oder kleiner ist, andersartige Verhältnisse vorliegen. Wir konnten mit ähnlichen Modellversuchen wie Frenzel und Mitarbeiter zeigen, daß eine Steigerung der Diffusionsgeschwindigkeit im Ultraschallfeld wahrscheinlich ist. Dabei verwandten wir Membranen aus Schweinsblasen und Cellophan sowie Pfeffersche Zellen. Stoffe, wie Eosin und 8-Oxychinolinsulfat, passierten die Membranen schneller im Ultraschallfeld als in gewöhnlichen Osmose-Versuchen. Schmitt und Uhlemeyer (1930) hatten bei Bestrahlungen von *Spirogyra* eine Erhöhung der Permeabilität von Alkali-Ionen festgestellt. Anscheinend verhält sich das belebte Objekt ähnlich wie der Modellversuch. Diese Beobachtungen und Vergleiche ermutigten uns, die Erhöhung der Permeabilität im Ultraschallfeld auszunutzen, um evtl. die curative Dosis (c) zu verringern. Wir setzten der Kopplungssubstanz geringe Mengen von Desinfektionsmitteln, wie 8-Oxychinolinsulfat (Chinosol) und Ceresan, bei der Beschallung von Sämereien zu. Durch diese Kombination von Ultraschall und fungiziden bzw. bakteriziden Stoffen war es möglich, ohne Schäden des Saatgutes fast alle Bakterien und Pilze in vivo abzutöten. Mit dieser „Ultraschallbeizung" wäre die Wirksamkeit der chemischen Saatgutdesinfektion auch in solchen Fällen nutzbar zu machen, in denen

bisher nur die Anwendung der etwas unsicheren und trotz aller Verbesserungen umständlichen Heißwasserbeize einsatzfähig erschien. Wichtig ist hierbei allerdings die zweckmäßige Wahl der bakteriziden und fungiziden Stoffe. Anscheinend eignen sich Stoffe mit innertherapeutischer Wirkung, wie das 8-Oxychinolinsulfat (JAENICHEN und HEIMANN 1954), besser als die quecksilberhaltigen Saatgutbeizmittel, die wegen einer zu großen Tiefenwirkung der Hg-Ionen unerwünschte Schädigungen des Embryos herbeiführen können (NIETHAMMER 1930). Als günstig erwiesen sich geringe Zusätze von Indolyl-3-Essigsäure, die anscheinend als Wuchsstoff die Keimung und die weitere Entwicklung der Pflanzen begünstigten. So konnten bei dem beizmittelempfindlichen Tomatensamen mit einer Kombination des Ultraschalls mit 8-Oxychinolinsulfat und Indolyl-3-Essigsäure die höchsten Fruchterträge (39 bis 41 % mehr als bei der Kontrolle) geerntet werden.

Diese erhöhte Wirksamkeit der fungiziden und bakteriziden Stoffe bei gleichzeitiger Anwendung von Ultraschallwellen dürfte bis zu einem gewissen Grade auf der bereits erwähnten Steigerung der Diffusionsgeschwindigkeit für die in der Kopplungsflüssigkeit gelösten Substanzen zurückzuführen sein. Allerdings ist auch die Aufnahme des Lösungsmittels Wasser erhöht. BERENTS (1948) beobachtete eine etwa fünfmal so hohe Wasseraufnahme bei Erbsen, die 10 Minuten lang mit 4,8 W/cm² bestrahlt wurden. Wir fanden bei einer 30-Minuten-Beschallung von Liho-Raps-Samen mit 6 W/cm² eine vermehrte Wasseraufnahme von 40 % und bei Zuckerrübenknäueln eine solche von etwa 55 %.

Neben der Erhöhung der Diffusionsgeschwindigkeit für Wasser und Zusatzstoffe im Ultraschallfeld sind zweifellos noch andere Faktoren sowohl an der gesteigerten Wirkung der Bakterizide und Fungizide als auch an dem insgesamt besseren Wachstum der Pflanzen beteiligt. Sicher spielen dabei noch unbekannte kolloid-chemische Vorgänge eine Rolle (ISTOMINA und OSTROVSKIJ 1936, WEDEKIND 1938, DAWYDOW 1940 u. a.). Außerdem könnte auch die geringe Erwärmung der Samen, die trotz der Wasserkühlung während der Beschallung auftritt, an den Wirkungen beteiligt sein. Daß Wärme auf das Saatgut einen förderlichen Einfluß für die Entwicklung der Pflanzen haben kann, zeigen Untersuchungen von SINEPOL (1951) bei Luzerne und RUGE (1952) bei Futtermalven. Andererseits wird die Erwärmung im Ultraschallfeld an den Grenzflächen, Samenschale (oder Fruchtoberfläche) und Kopplungsflüssigkeit, die Permeabilität für Wasser und gelöste Stoffe erhöhen. Die Förderung der Keimfähigkeit des Saatgutes und die Wüchsigkeit der Pflanzen wird zweifellos auch durch die Schwächung oder Abtötung der pathogenen Bakterien und Pilze gefördert.

Somit liegt bei der Anwendung der hochfrequenten Schallwellen in Verbindung mit Zusätzen zur Kopplungsflüssigkeit eine Komplexwirkung auf pathogene Schadorganismen und Samen vor. Die Wirkungsfaktoren greifen je nach der Versuchsanordnung in verschiedener Weise ineinander, so daß

alle Modifikationen von leichter Zellstimulation bis zur Zerstörung des Protoplasten und der Zellmembran entstehen können. Bei geeigneter Wahl der Beschallungsbedingungen ist jedoch die kombinierte phytotherapeutische Anwendung bei bakterien- und pilzinfiziertem Saatgut mit Erfolg anwendbar.

Zusammenfassung

1. Es wurde eine Versuchsanordnung zur Ultraschallbestrahlung von Bakterien und Pilzen in vitro ausgearbeitet, die in Abänderung auch eine Beschallung von Saatgut zum Zwecke der Abtötung von parasitischen Bakterien und Pilzen in vivo zuläßt.

2. Die Abtötung der Bakterien (*Bacterium michiganense*) in vitro gelang bei hohen Ultraschallintensitäten. Wurde Aqua bidest. als Suspensionsmittel der Reinkulturen verwendet, so trat Letalität bei einer Intensität von 18 bis 20 W/cm² und einer Beschallungszeit von 30 Minuten ein. In flüssigem Bouillon-Nährboden als Suspensionsmittel der Bakterien waren dagegen etwa 30 bis 40 W/cm² bei 20 bis 30 Minuten Einwirkungszeit erforderlich.

3. Konidien pflanzenpathogener Pilze erwiesen sich noch resistenter als Bakterien und erforderten höhere Intensitäten zur Erzielung der Letalität.

4. Niedrige Intensitäten (2 bis 4 W/cm²) und kurze Bestrahlungen mit höheren Energien fördern Wachstum und Vermehrung der Bakterien und Pilze in vitro. Diese Beeinflussung ist auf eine Komplexwirkung verschiedener Faktoren zurückzuführen, vor allem auf Erhöhung der Permeabilität, der Temperatur und Dispersion der Mikroorganismen in der Suspension. Außerdem spielen anscheinend Ferment- und Wuchsstoffaktivität eine nicht unwesentliche Rolle.

5. Die Letalität des Ultraschalls für Bakterien und Pilze beruht zum großen Teil auf Kavitationsvsorgängen, die namentlich an der Grenzfläche: Zellmembran—Kopplungsflüssigkeit wirksam sind. Die hochfrequenten Schallwellen verursachen in der Zelle eine mikrodisperse Verteilung der protoplasmatischen Gebilde. Durch innere und äußere Kavitationen wird ein Zerplatzen des Zelleibes hervorgerufen. An diesen Vorgängen ist zweifellos die mit der Bestrahlung verbundene lokale Erwärmung beteiligt.

6. Die Abtötung der pflanzenpathogenen Bakterien und Pilze in vivo, in unserem Falle in Samen von Tomaten und Fruchtständen von Zuckerrüben (Rübenknäuel), ist mit den erwähnten hohen Intensitäten noch

nicht zu erreichen. Die Dosis curativa des Ultraschalls (c) ist weit höher als die Dosis toxica (t). Infolgedessen wird der therapeutische Index der Bestrahlung (c/t) größer als 1, so daß die Beschallung in dieser Form zur Behandlung infizierten Saatgutes nicht anwendbar ist.

7. Da die Permeabilität der Zellmembranen und der Protoplasten durch Ultraschallbestrahlung erhöht wird, ist es möglich, durch Einschallung von Desinfektionsmitteln den Wert der Dosis curativa (c) herabzudrücken. „c" wird dann kleiner als „t", und damit ist eine Ultraschallchemotherapie infizierten Saatgutes möglich, wenn geeignete Desinfektionsmittel der Kopplungsflüssigkeit zugesetzt werden.

8. Von den verwandten Desinfektionsmitteln eignet sich u. a. 8-Oxychinolinsulfat (Chinosol), das sowohl gegen Pilze (*Cercospora beticola, Phoma betae, Alternaria* spec., *Fusarium* spec. u. a.) als auch gegen Bakterien (*Bacterium michiganense* u. a.) eine beschränkte innertherapeutische Wirkung besitzt. Die quecksilberhaltigen Beizmittel sind ebenfalls geeignet, jedoch bewirkt ihre Anwendung bei empfindlichen Samen (Tomaten) leicht Schäden, da die Hg-Ionen eine beträchtliche Tiefenwirkung besitzen und somit leicht den Embryo beeinträchtigen.

9. Durch Zusätze von Indolyl-3-Essigsäure konnte die Keimung der Samen und Früchte sowie das nachfolgende Wachstum der Sämlinge stimuliert werden.

10. Da nicht nur die Diffusionsgeschwindigkeit der Stoffe, welche der Kopplungsflüssigkeit beigefügt werden, sondern auch die des Lösungsmittels Wasser gefördert wird, nimmt das Saatgut während der Behandlung Wasser auf. Jedoch kann ungequollenes Saatgut relativ kurzer Beschallungszeit unterworfen werden, so daß die Wasseraufnahme sich etwa in der gleichen Größenordnung hält wie bei der Kurznaßbeize. Eine Rücktrocknung des Saatgutes ist allerdings erforderlich.

11. Das Auflaufen der Tomatensämlinge wie auch das anderer Kulturpflanzenarten wird im allgemeinen durch Erhöhung der Keimfähigkeit und Keimschnelligkeit gefördert. Bei Zuckerrübenknäueln stellte sich eine geringe Verminderung der Keimprozente und der Keimschnelligkeit ein, jedoch waren die aufgelaufenen Keimlinge bei einer Letalität von nur 0,45 % gesünder als die der Kontrolle mit einer Sterblichkeit von 58,7 %.

12. Selbst stark mit *Bacterium michiganense* infiziertes Tomatensaatgut erwies sich nach der Behandlung frei von vermehrungsfähigen und virulenten Keimen und lieferte gesunde Pflanzen. Bei Rübenknäueln wurden die Pilze,*Cercospora beticola, Phoma betae, Alternaria* spec., *Fusarium* spec. restlos abgetötet.

13. Die Tomaten brachten nach der Beschallung einen um 29 bis 41 % höheren Ertrag als die Kontrollen. Bei den Zuckerrüben war das Gewicht der Einzelrübe der aus behandeltem Saatgut aufgezogenen Pflanzen etwas höher, während sich hinsichtlich der Zuckerprozente keine gesicherten Unterschiede zwischen Beschallung und Kontrolle ergaben.

14. Die Steigerung der Keimfähigkeit wie auch die oft festgestellte Förderung des Wachstums und des Ertrages sind ebenfalls auf komplexe Wirkungen zurückzuführen, deren Mechanismus sich noch nicht übersehen läßt. Anscheinend spielt hierbei die Erhöhung der Permeabilität, der Ferment- und Wuchsstoffaktivität sowie auch die Nachwirkung der Erwärmung eine Rolle. Nicht unwesentlich für die Keimfähigkeit des Saatgutes und die Wüchsigkeit der Pflanzen ist die Beeinträchtigung oder auch Letalität der pathogenen Bakterien und Pilze durch den Ultraschall.

15. Die Beschallung des Saatgutes mit Zusatz von Desinfektionsmitteln (und eventuell Wuchsstoffmitteln), eine „Ultraschallbeize", erscheint brauchbar, da in Samen und Früchten sowie Fruchtständen eingedrungene pathogene Bakterien und Pilze abgetötet werden. Das beschriebene Verfahren ist möglicherweise auch bei Objekten anwendbar, die bisher nur mit Heißwasserbeize erfolgreich behandelt werden konnten, wie z. B. bei flugbrandbefallenem Weizen und Gerste.

Literaturverzeichnis

1. Akiyama, S., 1936: Über die bakterizide Wirkung der Ultraschallwellen. Tohoku J. exp. Med. **30**, 192—195.

2. Beckwith, T. D. and Olson, A. R., 1931: Ultrasonic radiation and yeast cells. Proc. Soc. exp. Biol. Med. **29**, 362—364.

3. — — and Weaver, C., 1936: Sonic energy as a lethal agent for yeast and bacteria. J. Bacteriology **32**, 361—371.

4. Berents, J., 1948: Untersuchungen über Keimveränderungen an Erbsen *(Pisum sativum)* durch Ultraschall unter besonderer Berücksichtigung der histologischen Abweichungen. Diss. Erlangen, Med. Klinik.

5. Dawydow, G. K., 1940: Die Wirkung des Ultraschalls auf die Samen der Zuckerrübe. C. R. (Doklady) Acad. Sci. URSS **29**, 491—493.

6. Eggebrecht, H., 1949: Untersuchung von Saatgut. Verlag Neumann, Neudamm-Hamburg.

7. v. Euler, H. und Skarzynski, B., 1943: Einwirkungen von Ultraschallwellen auf Hefe. Naturwiss. **31**, 389.

8. Förster, F. und Holste, A., 1937: Zur biologischen Wirkung von Ultraschall. Naturwiss. **25**, 11—12.

9. French, C. S., 1940: The pigment of coating compound in photosynthetic bacteria. I. The extraction and properties of photosynthin. J. Gen. Physiol. **23**, 469.

10. FRENZEL, H., HINSBERG, K. und SCHULTES, H., 1935: Über den Einfluß des Ultraschalls auf Diffusionsvorgänge (nebst Bemerkungen über seine Wirkung auf menschliche Gewebe). Z. exp. Med. **96**, 811—816.

11. FÜCHTBAUER. H. und THEISMANN, H., 1949: Zur Wirkung des Ultraschalls auf Bakterien. Naturwiss. **36**, 346—347.

12. GRABAR, P. et ROUYER, M., 1945: La désintégration de microbes par les ultrasons. Ann. Inst. Pasteur **71**, 154—157.

13. HAMBRE, D., 1949: The effect of ultrasonic waves upon *Klebsiella pneumoniae, Saccharomyces cerevisiae, Miyagawanella felis* and Influencavirus A. J. Bacteriology **57**, 279—295.

14. HARVEY, E. N. and LOOMIS, A. L., 1928: High frequency sound waves of small intensity and their biological effect. Nature, Lond. **121**, 622—624.

15. — — and — —, 1929: The destruction of luminous bacteria by high frequency sound waves. J. Bacteriology **17**, 373—376.

16. HERCIK, F., HRDLICKA, M. und SPRINDRICH, J., 1942: Die biologische Wirkung des Ultraschalls. Sborn. lék. (tschechisch) **44**, 15.

17. HESSE, R., 1952: Zur Wirkung der Ultraschallbehandlung von Samen auf die Keimung und das nachfolgende Wachstum von Pflanzen. Flora **139**, 565—585.

18. HOMPESCH, H., 1949: Über den Mechanismus der Wirkung der Ultraschallwellen. Kongreßbericht der Erlanger Ultraschalltagung. 1. S. Hirzel, Zürich. 218—224.

19. — —, 1950: Untersuchungen zum Mechanismus der bakteriziden Wirkung des Ultraschalls. Kongreßbericht der Ultraschalltagung in Rom. Nuovo Cim. **7**, Supplemento Nr. 2, 498—504.

20. HORTON, J. P., 1953: The effect of intermolecular bond strength on the onset of caviation. J. acoust. Soc. Amerc. **25**, 480—484.

21. ISTOMINA, O. and OSTROVSKIJ, E., 1936: The effect of super-sonic vibrations on potato growth. C. R. Moskau **2**, 155—160.

22. JAENICHEN, H. und HEIMANN, M., 1954: Untersuchungen über die Wirkung des Chinosols (8-Oxychinolinsulfat) auf verschiedene parasitische bodenbewohnende Pilze *(Rhizoctonia spec., Fusarium spec., Thielavia basicola* und *Verticillium albo-atrum).* Gartenbauwiss. N. F. **1**, 218—238.

23. KAIBARA, T., 1949: The effect of the ultrasonics on a mold. J. Agr. Chem. Soc. Japan **22**, 142—144, **23**, 79—80.

24. KOCH, J., 1950: Untersuchungen an Süßmosten und Beerenweinen mit Ultraschall. Die industr. Obst- u. Gemüseverw. **35**, 3—7.

25. — — und BRETTHAUER, G., 1951: Untersuchungen an Süßmosten und Beerenweinen mit Ultraschall. Die industr. Obst- u. Gemüseverw. **36**, 21—22.

26. KNAPP, W., 1952: Die Wirkung von Ultraschall auf Typhusbakterien. Arch. Hyg. Bakt. **136**, 319—342.

27. KOTTE, W., 1930: Der Bakterienkrebs der Tomate, eine für Deutschland neue Pflanzenkrankheit. Z. Pflanzenkr. u. Pflanzensch. **40**, 51—56.

28. KÜSTER, E. und THEISMANN, H., 1949: Über den Einfluß von Ultraschall auf *Aspergillus niger.* Naturwiss. **36**, 380.

29. LAPORTE, R. et LOISELEUR, J., 1945: Sur le degré de résistance de souches de bacilles tuberculeux à la désintégration par les ultrasons. Ann. Inst. Pasteur **71**, 375—378.

30. Lembke, A., 1949: Läßt sich durch Ultraschall Milch entkeimen? Über den Einfluß mechanischer Schwingungen auf mikroskopische Kleinlebewesen. Südd. Molkerei Ztg. 70, 412—414.

31. Loiseleur, J., 1945: Sur le mode d'action des ultrasons sur les microbes. Ann. Inst. Pasteur 71, 378—380.

32. Martinec, Th., 1943: Der Einfluß des Ultraschalls auf Körner und verschieden alte Hirsepflanzen. *(Panicum)* Planta 33, 546—557.

33. Martischnig, E., 1952: Untersuchungen über die Wirkung von Ultraschall-Kleindosen auf Bakterien. Wien, Klin. Med. 6, 509—510.

34. Niethammer, A., 1930: Die Dosis tolerata und toxica der Beizmittel als eine Komponente der physico-chemischen Struktur des Samenkornes. Z. Pflanzenkr. u. Pflanzensch. 40, 44—50.

35. Orth, H., 1937: Untersuchungen über die Biologie und Bekämpfung des Erregers der Bakterienwelke der Tomaten *(Bact. michiganense)*. Zbl. Bakt. Parasitenk. u. Infektionskrankheiten 96, II. Abt., 376—402.

36. Ruge, U., 1952: Über die Beeinflussung der Entwicklung der Futtermalve durch Erhitzen des lufttrockenen Saatgutes. Z. Acker- u. Pflanzenb. 95.

37. Schmitt, F. O. a. Uhlemeyer, B., 1930: The mechanism of the lethal effect of ultrasonic radiation. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 27, 626—628.

38. Schumacher, W., 1951: Ultraschallversuche an Schimmelpilzsporen. Deutsch. Gesundheitswesen 6, 1449.

39. Sinepol, M. F., 1951: Einfluß der Samenerwärmung auf die Entwicklung von Luzerne. Selekcija i Semenovodstro 18. Zitiert nach Ref. „Der Züchter", 21 (1951).

40. Specht, W. und Ruess, F., 1952: Über den Stand der Erkenntnisse und die Probleme bei der Ultraschallanwendung in der Brau-Industrie. Ultraschall in der Medizin 5, 8—14.

41. Springer, R. und Köchl, G., 1950: Beobachtungen bei Versuchen zur Keimfreimachung mittels Ultraschall. Angew. Chemie 62, 96.

42. — — und — —, 1951: Beobachtungen bei Versuchen zur Keimfreimachung mittels Ultraschall. D. Lebensm. Rsch. 47.

43. Stockebrand, A., 1952: Einwirkung von Ultraschall auf Keimung und Wachstum der Zuckerrübe. Z. Acker- u. Pflanzenb. 95, 401—422.

44. Theismann, H. und Wallhäuser, K., 1950: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an beschallten Bakterien. Naturwiss. 37, 185.

45. Veltmann, G., 1951: Quantitative Untersuchungen mit Ultraschall an Mikroorganismen. Z. ges. exp. Med. 118, 55—70.

46. — — und Woeber, Kh., 1949: Beitrag zur bakteriziden Wirkung des Ultraschalls. Strahlentherapie 79, 587—598.

47. — — und — —, 1949: Über den Einfluß der Ultraschallwellen auf Tuberkelbazillen in vitro und im Gewebe. Kongreßbericht der Erlanger Ultraschalltagung, 233 bis 237.

48. — — und — —, 1950: Untersuchungen über die biologische Dosierung des Ultraschalls an Bakterien. Kongreßbericht d. Ultraschalltagung in Rom. Nuovo Cim. 7, Supplemento Nr. 2, 525—533.

49. Wedekind, Th., 1938: Die biologischen Wirkungen des Ultraschalls. Münch. Med. Wschr. **85**, 1052.

50. Williams, O. B. and Gaines, W., 1930: The bacterial effects of high frequency sound waves. J. infect. Dis. (Amer.) **47**, 485—489.

51. Wuttge, H., 1949: Zur Frage der Eintreibwirkung des Ultraschalls. Kongreßbericht der Erlanger Ultraschalltagung, 142—153.

52. Yawoi, H. and Nakahara, W., 1934: Effect of short exposure to supersonic waves on vaccine virus and some bacteria. Jap. J. exp. Med. **12**, 131—135.

53. Yamaha, G. und Ueda, R., 1939: Über den Einfluß der Ultraschallwellen auf die Wurzelspitzenzellen von *Vicia faba* L. Cytologica, Tokyo **9**, 524—529.

54. Yen, A. H. C. and Szu-Chin-Liu, 1934: Effect of supersonic waves on bacteria. Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. (Amer.) **31**, 1251—1252.

Kurze Mitteilungen

Aus dem Botanischen Institut der Universität Frankfurt (Main)

Physiologische und anatomische Studien zum Problem der Wundsetzung bei Speichergeweben

Von

G. Rosenstock

Mit 1 Abbildung

Es liegen schon eine Reihe älterer und jüngerer Arbeiten vor, die sich mit den verschiedenartigen Folgen einer Wundsetzung bei Speichergeweben befassen. Neben anderen treten dabei drei Arbeitsrichtungen besonders hervor: Die eine strebt danach, durch anatomische Untersuchungen die mit der Wundsetzung verknüpften Veränderungen in den wundnahen Zellschichten zu erfassen, und zwar unter Berücksichtigung verschiedenartiger Außenfaktoren (Czaja 1953; dort auch Zusammenstellung der diesbezüglichen älteren Arbeiten). Eine zweite Arbeitsrichtung befaßt sich mit dem Studium der vor bzw. nach der Wundsetzung wirksamen Fermente (Schade, Levy, Bergmann and Harris 1949). Eine dritte Arbeitsrichtung schließlich widmet dem Gaswechsel der verletzten Gewebe ihre Aufmerksamkeit. Hierbei spielt insbesondere die Frage einer möglichen Beeinflussung der Atmung durch Wundstoffe eine Rolle im Anschluß an die von Haberlandt (1921, 1922) gefundenen Wirkungen solcher Stoffe bei der Wundverkorkung (Übersicht über die älteren Arbeiten bei Steward, Wright and Berry 1932; weiterhin auch Stiles and Dent 1947).

Aufgabe der vorliegenden Arbeit sollte es sein, die Wirkung einer Wundsetzung bei Speichergeweben auf deren CO_2-Abgabe in der Zeit besser als bisher zu erfassen. Die diesbezüglichen Messungen waren daher mit einer Apparatur durchzuführen, die es erlaubte, die CO_2-Abgabe der verletzten Gewebe unmittelbar vom Zeitpunkt des Eingriffes über mehrere Wochen ununterbrochen zu registrieren. Darüber hinaus galt es, durch zahlreiche Versuchsvariationen und durch die Verbindung von zeitlich ausgedehnten, kontinuierlichen, physiologischen mit ebensolchen anatomischen Untersuchungen an gleichbehandeltem Material eine kausalanalytische Deutung der Zeitphasen der CO_2-Abgabe verletzter Speichergewebe zu finden.

Methodik: Als Versuchsmaterial werden ganze Knollen von *Solanum tuberosum* (Sorte „Bona") sowie mehr oder minder dünne Scheiben aus den Knollen verwendet. Diese Objekte sind auch in den oben zitierten Arbeiten mehrfach untersucht worden. Die Messung der CO_2-Abgabe erfolgt mit Hilfe des inzwischen weitgehend bekanntgewordenen Ultrarotabsorptionsschreibers (URAS) in kontinuierlicher Registrierung. Bezüglich der Einzelheiten der Apparatur und deren Fehlerbereich sei auf die Arbeit von EGLE und SCHENK (1951) verwiesen*).

Der Versuchsgang erfolgt so, daß zunächst die CO_2-Abgabe der ganzen, ungeschälten, also unverletzten, Kartoffelknollen während mehrerer Tage in einem CO_2-freien, wasserdampfgesättigten, mehrfach gefilterten Preßluftstrom von 30 Liter Strömungsgeschwindigkeit je Stunde und einer Temperatur von 20^0 C $\pm$ $0{,}1^0$ C geprüft wird. Nach der sich anschließenden Wundsetzung (mechanisches Entfernen der gesamten primären Korkhaut bei den Knollen bzw. Herausschneiden von Scheiben aus den Knollen) erfolgt sofort die Messung der CO_2-Abgabe der verletzten Gewebe, und zwar kontinuierlich über einen Zeitraum von drei Wochen unter den gleichen, vorher genannten Bedingungen.

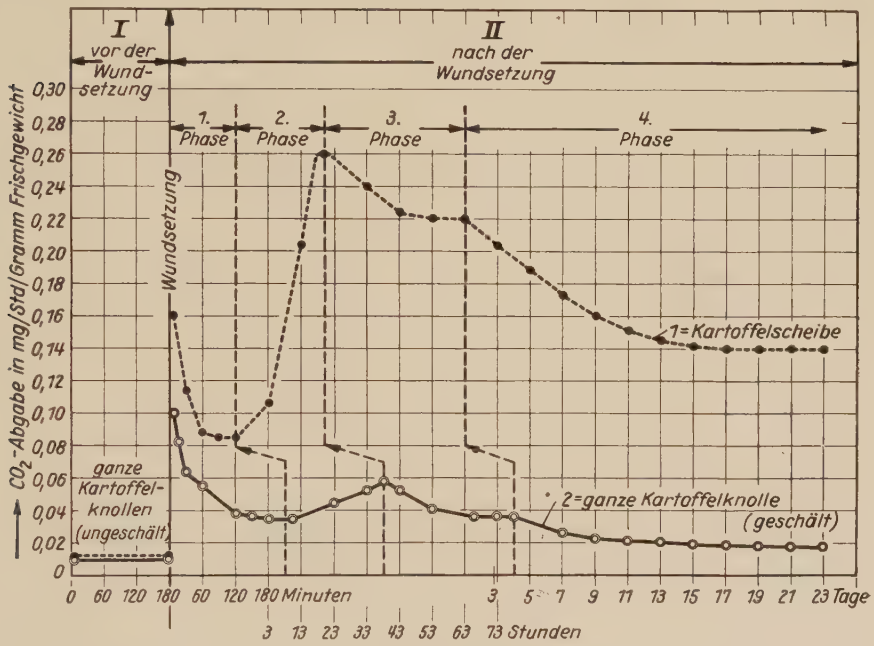
Die anatomischen Untersuchungen erfolgen an Objekten, die nach entsprechender Wundsetzung während der folgenden Wochen ebenfalls den geschilderten Bedingungen unterworfen sind. Zur mikroskopischen Prüfung gelangen dann gleichdünne Mikrotomschnitte, die alle vorher zwecks Anfärbung des Wundkorkes für die gleiche Zeit einer Sudan-Glycerin-Lösung ausgesetzt werden. Diese anatomischen Untersuchungen, die vom ersten bis fünften Tage nach der Wundsetzung im Abstand von jeweils sechs Stunden, vom sechsten Tage an in einem Abstand von jeweils zwölf Stunden durchgeführt werden, zeigen auch, daß unter den gegebenen Versuchsbedingungen in den ersten drei bis fünf Tagen nach der Verletzung kein nennenswerter Befall der verletzten Gewebe durch Mikroorganismen erfolgt ist. Die in dieser Zeitspanne gefundenen Reaktionen können daher nicht auf die Anwesenheit solcher Mikroorganismen zurückgeführt werden. Vom sechsten bis 23. Versuchstag nach der Wundsetzung läßt sich bei einer Reihe von Versuchsobjekten eine langsam zunehmende Entwicklung von Pilzmyzelien feststellen. Durch öfteres Reinigen der Objekte wird jedoch eine stärkere Entwicklung der Myzelien vermieden. Im übrigen zeigen Vergleichsversuche zwischen ungereinigten, stark befallenen Objekten und solchen, die nicht oder nur schwach befallen sind, daß hinsichtlich des Gesamtverlaufes der CO_2-Abgabe nach der Wundsetzung kein grundsätzlicher Unterschied besteht. Die in der Abbildung angegebenen Werte stellen Mittelwerte aus mehreren Meßreihen dar, wobei die Einzelkurven nur geringfügige Unterschiede aufweisen.

Die Abbildung zeigt die über drei Wochen fortlaufend gemessene CO_2-Abgabe einer 3 mm dünnen Kartoffelscheibe unmittelbar vom Zeitpunkt des Herausschneidens aus der Knolle (Kurve 1) sowie die über die gleiche Zeit studierte CO_2-Abgabe einer ganzen Knolle unmittelbar vom Zeitpunkt der mechanischen Entfernung des gesamten primären Korkmantels (Kurve 2). Während die CO_2-Abgabe der ganzen, unverletzten Kartoffelknollen mit Werten bei 0,01 mg je Stunde und je Gramm Frischgewicht außerordentlich gering ist und über einen Zeitraum von mehreren Tagen, von dem nur die letzten drei Stunden angegeben sind, vollkommen konstant verläuft (I der Abb.), ändern sich nach der Wundsetzung bei beiden Objekten sowohl das Ausmaß als auch der zeitliche Verlauf der CO_2-Abgabe in auffälliger Weise. Dabei lassen sich beim Studium des zeitlichen Verlaufes der CO_2-Abgabe, der bei beiden Objekten grundsätzlich übereinstimmt, deutlich vier Phasen feststellen:

In der ersten Phase (II, 1 der Abb.) erfolgt bei beiden Objekten un-

*) Herrn Prof. Dr. K. EGLE bin ich für die Überlassung der Versuchsapparatur zu herzlichem Dank verpflichtet.

mittelbar nach der Wundsetzung ein außerordentlich starker Anstieg der CO_2-Abgabe, wobei Werte erreicht werden, die je Zeit- und Gewichtseinheit 10- bzw. 16 mal höher liegen als die Ausgangswerte der ganzen und unverletzten Gewebe. Diese hohen Werte bleiben jedoch nicht erhalten. Die CO_2-Abgabe läßt vielmehr sofort nach und erreicht erst nach $1^1/_2$ bzw. 3 Stunden konstante Werte, die aber die Ausgangswerte noch immer beträchtlich übersteigen. Bei der Kartoffelscheibe bleiben diese konstanten Werte etwa $^1/_2$ Stunde, bei der ganzen Knolle etwa 8 Stunden erhalten.



Zeitphasen der CO_2-Abgabe von Kartoffelparenchym vor und nach einer Wundsetzung.

Kurve 1: 3 mm dünne Kartoffelscheibe nach dem Ausschneiden aus einer ganzen, ungeschälten Kartoffelknolle.

Kurve 2: Ganze Kartoffelknolle nach mechanischer Entfernung der gesamten primären Korkhaut.

Der Maßstab auf der Abszisse ist nach der 3. und abermals nach der 73. Stunde geändert!

Dann setzt die zweite Phase ein (II, 2 der Abb.). In ihr erfolgt wiederum bei beiden Objekten ein bedeutender Anstieg der CO_2-Abgabe. Am Ende dieser Phase (20 Stunden nach der Wundsetzung bei der Kartoffelscheibe, 38 Stunden nach der Wundsetzung bei der ganzen Knolle) werden dabei von der Kartoffelscheibe Maximalwerte der CO_2-Abgabe erreicht, die die Ausgangswerte um das 26fache je Zeit- und Gewichtseinheit übersteigen. Die Werte bei der ganzen, geschälten Kartoffel liegen nur $5^1/_2$ mal höher als die Ausgangswerte. Bei beiden Objekten bleibt aber auch jetzt die CO_2-Abgabe nicht konstant.

Vielmehr erfolgt in einer dritten Phase (II, 3 der Abb.) bei beiden Objekten ein Nachlasse der CO_2-Abgabe bis zur Einstellung eines Gleichgewichtes, das bei der Kartoffelscheibe von der 53. bis zur 63. und bei der ganzen Knolle von der 65. bis zur 95. Stunde nach der Wundsetzung erhalten bleibt.

Dann beginnt die vierte und letzte Phase (II, 4 der Abb.). In ihr zeigen beide Objekte ein neuerliches Nachlassen der CO_2-Abgabe bis zur Einstellung eines dauernden Gleichgewichtes. Letzteres stellt sich bei der Kartoffelscheibe 15 Tage nach der Wundsetzung, bei der ganzen Knolle 17 Tage nach der Verletzung ein. Die zu diesem Zeitpunkt je Zeit- und Gewichtseinheit erreichten Werte der CO_2-Abgabe sind bei der ganzen Knolle noch immer fast doppelt so hoch, bei der Kartoffelscheibe sogar 14mal so hoch wie die Ausgangswerte.

Die unter zahlreichen Versuchsvariationen durchgeführten, zeitlich ausgedehnten Prüfungen der CO_2-Abgabe von verletztem Kartoffelparenchym führten in Verbindung mit ebenfalls zeitlich ausgedehnten anatomischen Untersuchungen an gleichbehandelten Kontrollobjekten zu dem Ergebnis, daß die geschilderten vier Phasen der CO_2-Abgabe nach der Wundsetzung der Ausdruck für verschiedene, sich teilweise überlagernde Prozesse sind, die eben durch die Wundsetzung ausgelöst werden. Die einzelnen Phasen sind dabei wie folgt zu deuten:

1. Phase: Sie erhält ihre Prägung vorwiegend durch das relativ kurzfristige, in Richtung eines Konzentrationsgefälles erfolgende Ausströmen des im Gewebe unter der Korkschicht in beträchtlicher Menge angehäuften Kohlendioxyds nach der Beseitigung von Diffusionswiderständen.
2. Phase: Sie wird hauptsächlich gestaltet durch eine zunehmende Atmungssteigerung als Folge der verbesserten Diffusionsbedingungen.

Da die beiden vorher genannten Vorgänge übereinandergreifen, stellen die in der Abb., Phase 1 und 2, angegebenen Kurvenabschnitte die Resultante dieser beiden Vorgänge dar.

3. Phase: Sie ist die Auswirkung einer zunehmenden Erschwerung der Gasdiffusion infolge sukzessiver sekundärer Wundverkorkung der unmittelbar unter den Wundflächen gelegenen Parenchymschichten.
4. Phase: Sie wird geprägt durch eine weiterhin zunehmende Diffusionshemmung als Folge der Bildung eines sekundären Korkgewebes unter den während Phase 3 verkorkten Parenchymzellen.
   Das Nachlassen der CO_2-Abgabe in den Phasen 3 und 4 dürfte aber nicht nur durch die mikroskopisch zu beobachtende Wundverkorkung allein bedingt sein, sondern auch durch das Nachlassen der Fermentaktivität. Letzteres kann eine Folge von Nährstoffmangel in den Oberflächenzellen oder eine Folge der sich verändernden O_2- und CO_2-Konzentrationen in dem vom Wundkork sekundär „eingeschlossenen" Gewebe sein.

Die vorliegenden Untersuchungen in ihrer Gesamtheit sprechen dagegen, daß durch die Wundsetzung eine von Wundstoffen ausgehende Wirkung auf das Atmungssystem ausgeübt wird. Alle Atmungssteigerungen, die in den Versuchen festgestellt wurden, lassen sich vielmehr als Folge der mit der

Wundsetzung verbundenen verbesserten Diffusionsbedingungen erklären. Dafür sprechen auch Versuche mit der Kohlrabiknolle, in denen der Gaswechsel der verletzten Gewebe unter Reproduktion der von HABERLANDT (1922) angegebenen Versuchsbedingungen gemessen wurde. Die unterschiedlichen Diffusionsverhältnisse nach der Wundsetzung sind auch verantwortlich zu machen für die in der Abbildung zu erkennende höhere Intensität der CO_2-Abgabe sowie für den allgemein schnelleren Reaktionsverlauf bei der Kartoffelscheibe im Verhältnis zur ganzen Knolle. Die Versuche zeigen auch, daß dem Wundkork — zumindest anfänglich — eine größere Durchlässigkeit zukommt als dem primären Kork. Schließlich ergibt sich aus den Untersuchungen, daß die Prüfung des außerhalb des Gewebes in Erscheinung tretenden Gaswechsels nach einer Wundsetzung k e i n absolutes Maß für den tatsächlichen Atmungsvorgang ist. Einerseits wird nämlich durch die mit der Verletzung verbundene Verminderung der Diffusionswiderstände nicht nur die momentan gebildete Atmungskohlensäure, sondern auch vorher entstandenes, im Gewebe angehäuftes CO_2 frei (Phase 1); zum anderen tritt aber ein beträchtlicher Teil des tatsächlich gebildeten Kohlendioxyds infolge der — trotz Wundsetzung — nur unvollständigen Beseitigung der Diffusionswiderstände (Phase 1 und 2) oder infolge der Neubildung von Widerständen (Phase 3 und 4) gar nicht außerhalb des Gewebes in Erscheinung (s. auch DENNY 1947). Da analoge Verhältnisse auch für die O_2-Aufnahme angenommen werden müssen, so ist bei der Beurteilung von sogenannten „Atmungsquotienten" bei verletzten Speichergeweben besondere Vorsicht geboten, eine Tatsache, die eines eingehenden Studiums bedarf.

Ausführliches experimentielles Material zu den genannten Problemen und eine Diskussion der Ergebnisse unter Berücksichtigung der früheren Arbeiten werden an anderer Stelle veröffentlicht.

Literaturverzeichnis

CZAJA, A. Th., 1953: Beobachtungen und Versuche zur Physiologie des Periderms und Wundperiderms. Ber. dtsch. Bot. Ges. **66**, 211.

DENNY, F. E., 1947: Accumulation of carbon dioxide in potato tuber tissue under conditions for the removal of the exhaled gas. Contr. Boyce Thompson Inst. **14**, 315.

EGLE, K. und SCHENK, W., 1951: Die Anwendung des Ultrarotabsorptionsschreibers in der Photosyntheseforschung. Ber. dtsch. Bot. Ges. **64**, 181.

HABERLANDT, G., 1921: Wundhormone als Erreger von Zellteilungen. Beitr. allg. Bot. **2**, 1. — —, 1922. Über Zellteilungshormone und ihre Beziehungen zur Wundheilung. Biol. Zbl. **42**, 145.

SCHADE, A. L., LEVY, H., BERGMANN, L. and HARRIS, S., 1949: Studies on the respiration of the white potatoe. III. Changes in the terminal oxidase pattern of potatoe tissue associated with the time of suspension in water. Arch. Biochem. **20**, 211.

STEWARD, F. C., WRIGHT, R. and BERRY, W. E., 1932: The absorption and accumulation of solutes by living plant cells. III. The respiration of cut discs of potato tuber in air immersed in water, with observations upon surface: volume effects and salt accumulation. Protoplasma **16**, 576.

STILES, W. and DENT, K. W., 1947: Researches on plant respiration. VI. The respiration in air and in nitrogen of thin slices of storage tissues. Ann. Bot., N. S. **11**, 1.

Aus dem Institut für Phytopathologie der Karl-Marx-Universität Leipzig
Direktor: Prof. Dr. E. Mühle

Mißbildungen des Blütenstandes bei *Phleum pratense*

Von

Eberhard Königsmann

Mit 4 Abbildungen

Im Spätherbst 1954 fanden wir an verschiedenen Orten Pflanzen von *Phleum pratense* L. (Lieschgras), die sich von gesunden Pflanzen durch völlig abnorm gestaltete Blütenstände unterschieden. Die nähere Untersuchung zeigte, daß es sich um Verlaubungen (s. Mühle und Königsmann) und Durchwachsungen handelte. Es konnten beide Erscheinungen an einer Pflanze vorkommen, es wurden aber auch rein verlaubte Pflanzen festgestellt. Häufiger war die reine Verlaubung.

Die verlaubten Pflanzen wurden in der zweiten Novemberhälfte gefunden. Die Ährchen waren wie im Normalfall einblütig. Die Hüllspelzen unterschieden sich von denen gesunder Pflanzen durch größere Länge. Sie waren bis zu 7 mm lang, wiesen aber sonst normale Gestalt auf. Die Hüllspelzengranne war länger als normal, nur wenig deutlich abgesetzt und etwa halb so lang wie die übrige Spelze. Dadurch zeigte sich der gesamte Blütenstand sperriger. Verlaubt war hingegen die Deckspelze (*Palea inferior*). Sie hatte das Aussehen eines typischen Grasblattes (Abb. 1, 2). Ein kürzerer, heller grün gefärbter Abschnitt, der der Scheide eines normalen Blattes entspricht und der im untersten Teil verwachsen war, wurde von einer Ligula begrenzt. Nach oben folgte dann ein zweiter, den größeren Teil einnehmender, dunklerer, 8- bis 15nerviger Abschnitt, der der Spreite eines normalen Blattes entspricht (Abb. 2). Derart verlaubte Spelzen konnten eine Länge von 25 mm erreichen und waren oft verkrümmt. Häufig standen mehrere derart verlaubte Ährchen an einem kurzen, verzweigten Stielchen.

Durchaus nicht in jedem Ährchen war die Verlaubung so typisch ausgebildet. Es kamen die verschiedensten Übergangsstadien zwischen fast normalen Deckspelzen und typischer Verlaubung vor, während die gesunde Deckspelze dreispitzig ist, wobei die mittlere Spitze etwas länger ist. Dieser mittlere Teil war oft stärker entwickelt als die beiden seitlichen, so daß das Blättchen in seinem Oberteil kapuzenähnlich aussah. Mit fortschreitender Umwandlung trat der mittlere Teil immer stärker in den Vordergrund, bis die

Abb. 1. Ansicht des oberen Teiles einer stark verlaubten Scheinähre. Die sichtbaren, kräftigen Blättchen sind die verlaubten Deckspelzen. Vergr. 2,3 : 1

Foto: Königsmann

Abb. 2. Zwei verlaubte Ährchen. Hüllspelzen normal. Deckspelze des rechten Ährchens sehr stark verlaubt, in spreiten- und scheidenartigen Teil gegliedert. Vergr. 5,4 : 1

Foto: Königsmann

beiden Seitenspitzen nur noch leicht angedeutet waren und schließlich ganz verschwanden. Gleichzeitig mit dieser Entwicklung entstand sehr nahe der Blättchenbasis die Ligula, die das Blättchen in Scheide und Spreite gliedert. Bei sehr schwachen Verlaubungen fehlte die Ligula.

Die beschriebene Mißbildung zeigten alle Ährchen der betreffenden Pflanze, wenn auch oft nur in kleinsten Anfängen. Durch die übermäßige Entwicklung vegetativer Blütenteile war die Dicke der Scheinähre von 6 bis 7 mm auf 12 bis 16 mm erhöht. Der walzenförmige Umriß des Blütenstandes war auch dadurch verschwunden, daß die untersten Ährchen nicht wie normal allseitswendig standen, sondern am basalen Teil der Ährenspindel nur der

der Hüllblattscheide abgewandten Seite ansaßen, so daß der Blütenstand nach unten zugespitzt war.

Die Vorspelze (*Palea superior*) und die Geschlechtsorgane der Blüten waren in der Regel wie die gesunder Pflanzen ausgebildet. Der sich an die ährchentragende Region nach unten anschließende Teil der Achse war anomal entwickelt. Er war stark tordiert, spiralig verdreht (Abb. 3) und zum Teil sogar umgebogen, so daß die Spitze zum Erdboden zeigte, ohne daß die Achse umgebrochen war. Hier waren einzelne, zum Teil vertrocknete und daher bräunliche Ährchen mit unvollständig entwickelten Hüllspelzen zu finden, die schließlich in normal große, aber verlaubte Ährchen übergingen. Dazwischen standen in großer Zahl frei stehende, frische, langgestreckte, stark gegliederte und in der Basis zum Teil verzweigte Kegel embryonalen Gewebes (Abb. 3).

Abb. 3. Von links nach rechts: unterer, mittlerer und oberer Abschnitt des unter dem Blütenstand befindlichen stark tordierten Achsenteiles einer verlaubten Pflanze. Deutlich sichtbar sind die zum Teil basal geteilten Kegel embryonalen Gewebes. In der mittleren und rechten Abbildung sieht man einzelne Ährchen mit stark gestreckten, bleichen Hüllspelzen.
Vergr. 6,4 : 1
Foto: K. Herschel

Sie konnten auch mitten zwischen den Ährchen gefunden werden, die bis auf die Verlaubung normal waren, und zwar ungefähr bis in halber Höhe der Ährenspindel. Ihre Bedeutung ist unklar, da sie völlig anders als normale Vegetationspunkte und die Embryonalanlagen von Ährchen gestaltet waren. Vielleicht stellen sie die Anlagen der unten beschriebenen Durchwachsungen dar. Dann entsteht aber die Frage, warum die Pflanzen, die derartige Anlagen trugen, bei dem uns vorliegenden Material nie Durchwachsungen aufwiesen und andererseits an Pflanzen mit Durchwachsungen nie diese Embryonalanlagen vorkamen.

Ähnliche Verlaubungen erwähnen MÜHLE (S. 70) und BOHUTINSKI (S. 229), die ihre Funde ebenfalls im Herbst bzw. Spätherbst machten. Unseres Erachtens handelt es sich aber nicht, wie BOHUTINSKI schreibt, um eine Proliferation, sondern auch um eine Verlaubung der Deckspelze. Weitere Hinweise

auf derartige abnorme Bildungen findet man bei PENZIG (S. 452 bis 453) und FRANK (S. 238).

Irgendwelche Erreger tierischer Art, wie Milben u. a., konnten trotz sorgfältigen Suchens nicht gefunden werden. Auch Nematoden kamen nicht vor, auf die besonders geachtet worden war, da HEGI (S. 293) *Tylenchus phalaroides* Steinb. als Erreger einer Verlaubung bei Lieschgras angibt.

Das abnorme Aussehen der basalen, stark verbreiterten Teile der Blütenstände anderer, weitaus seltenerer Pflanzen wurde durch Mißbildungen bestimmt, die wahrscheinlich als Durchwachsungen zu deuten sind (s. PENZIG). Da die zusätzlich gebildeten Organe Blüten bzw. Ährchen waren, handelte es sich hier um Floralproliferationen. Die Funde wurden in den ersten Tagen des November 1954 gemacht.

Abb. 4. Die basalen Ährchen der beiden Blütenstände sind durchwachsen und zum Teil verlaubt. Vergr. 0,9 : 1
Foto: K. Herschel

Die Durchwachsungen konzentrierten sich auf das unterste Viertel der Hauptspindel, wo aber noch viele zumindest äußerlich normale oder auch verlaubte (s. o.) Ährchen gefunden wurden (Abb. 4). Weiter oben kamen dann nur noch einzelne Durchwachsungen vor. In der oberen Hälfte der Scheinähre waren keinerlei Mißbildungen mehr zu finden.

Die genaue Untersuchung der zuletzt beschriebenen Erscheinungen ergab folgendes Bild: Zwischen zwei regelmäßig vorkommenden Spelzen, die wahrscheinlich den Hüllspelzen normaler Ährchen entsprechen und daher von uns als durchwachsen angesehen wurden, erhob sich die Seitenachse erster Ordnung. Ihr saßen, dicht über der Basis beginnend, wechselständig eine Anzahl (vier bis sechs) Spelzen an. Wegen ihrer großen Zahl kann man diese Spelzen nicht als Umwandlungen von Deck- und Vorspelzen ansehen, da dann höchstens zwei Spelzen möglich gewesen wären. In der Achsel oder kurz über diesen Spelzen, die länger und breiter als die Blütenspelzen waren, entsprang je eine Seitenachse zweiter Ordnung, die ihrerseits wiederum wechselständige Spelzen trug. In der Achsel dieser Spelzen saßen zwei bis drei einblütige Ährchen mit Spelzen von meist normaler Größe. Die Seitenachsen zweiter Ordnung wurden durch zwei oder drei einblütige Ährchen abgeschlossen. In einzelnen Fällen wurden auch zwei- oder dreiblütige Ährchen gefunden. Bei

letzteren umgaben zwei Hüllspelzen zwei oder auch drei Geschlechtsanlagen, die ihrerseits von je zwei Spelzen umhüllt wurden. Die Seitenachse erster Ordnung endete in einem Büschel von 8 bis 20 stets einblütigen Ährchen. Die obersten waren oft unterentwickelt, klein und gelbbraun verfärbt.

Alle in den Durchwachsungen angetroffenen Ährchen standen dichtgedrängt aneinander. Die Deckspelzen der untersten Ährchen einer Durchwachsung konnten verlaubt sein. Die Geschlechtsanlagen sowohl der Blüten der Durchwachsungen als auch die gesunder oder allein verlaubter Blüten waren normal ausgebildet. Jedoch kamen die Ährchen der Durchwachsungen nicht zur Blüte, während die gesunden Ährchen der gleichen Scheinähre reife Staubbeutel trugen. Wie schon erwähnt, waren die oben beschriebenen Embryonalanlagen an diesen Pflanzen nicht zu finden. Die Ährenspindel war unterhalb der letzten, allseitswendigen Ährchen völlig normal entwickelt.

HEIDT beobachtete im September ähnliche Durchwachsungen: Ein Teil der Ährchen des unteren Viertels der Scheinähre war in Foliarproliferationen umgewandelt. Die Hüllspelzen, die zum Teil größer als normal waren, umschlossen einen Laubsproß, der sich an Stelle der Geschlechtsanlagen gebildet hatte und an dem unten die verlaubte Deckspelze ansaß. Die von uns beobachtete Ligula der Deckspelze wird von HEIDT nicht erwähnt. Verschiedentlich entwickelten sich in der Achsel der Hüll-, Deck- und Vorspelzen Foliarproliferationen. Auf der Mitte des Rückens der Deckspelze saß oft eine lange Granne. In anderen Fällen wandelte sich die obere Hüllspelze in eine solche Granne um, oder die Vorspelze trug eine Granne an der Spitze. Diese starke Grannenbildung konnte von uns ebenfalls nicht beobachtet werden.

Aussagen über die Ursachen der von uns beschriebenen Mißbildungen können noch nicht gemacht werden. Wir nehmen an, daß sie auf irgendwelche durch abnorme Witterungsverhältnisse des Jahres 1954 entstandene Stoffwechselstörungen zurückzuführen sind. Vielleicht deuten sie aber auch grundsätzlich auf bestimmte, während der späten Jahreszeit anders verlaufende Entwicklungsprozesse der Lieschgraspflanzen hin.

Literaturverzeichnis

1. BOHUTINSKI, G., 1914: Entwicklungsabweichungen beim Mais. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **32**, 222—248.

2. FRANK, A. B., 1896: Die tierparasitären Krankheiten der Pflanzen. Krankh. d. Pflanzen, 2. Aufl. Breslau. Bd. **3**.

3. HEGI, G., 1935: Illustrierte Flora von Mitteleuropa. 2. Aufl. Bd. **1**.

4. HEIDT, K., 1940—1943: Vergrünung, Prolifikation und Grannenbildung bei *Phleum pratense* L. Ber. Oberhess. Ges. Natur- u. Heilkde. Gießen N. F. Nat. Wiss. Abt. Bd. **20/22**, 204—209.

5. MÜHLE, E., 1953: Die Krankheiten und Schädlinge der zur Samengewinnung angebauten Futtergräser. Berlin.

6. — — und KÖNIGSMANN, E., 1954: Zur Frage der Kümmel„vergrünung". Z. Pflanzenkrankh. **61**, 396—402.

7. PENZIG, O., 1921: Pflanzenteratologie. 2. Aufl. Berlin.

BAND 23, HEFT 1 JANUAR 1955

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. Takewo Hemmi, Kyoto / Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Canberra / Prof. Dr. H. M. Quanjer, Wageningen Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest / Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann Zürich

M. Klinkowski Aschersleben

H. Richter Berlin-Dahlem

Mit 40 Abbildungen

1955

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 23, Heft 1, *S. 1—112, Berlin 1955*

MAR

INHALT

Abhandlungen

SAUTHOFF, W., Über toxische Stoffwechselprodukte in Kulturfiltraten von *Botrytis cinerea* Pers. Mit 11 Abb. 1

SIEBS, E., Untersuchungen über die Schorfresistenz von Birnen (III). Stofflicher Hinweis auf die Grundlagen der Blattschorfresistenz. Mit 2 Abb. 37

ZÄHNER, H., Über den Einfluß der Ernährung auf die Toxinempfindlichkeit von Tomatenpflanzen. Mit 15 Abb. 49

LINSKENS, H. F., Der Einfluß der toxigenen Welke auf die Blattausscheidungen der Tomatenpflanze. Mit 11 Abb. 89

MÜLLER, E., Zwei neue *Ustilagineae* auf afrikanischen *Eriocaulaceae*. Mit 1 Abb. 107

Besprechungen 110

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.

„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.

Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Schriftleitung: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19.

Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.

Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Richter, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Richter vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die drei ersten Bogen honoriert; Dissertationen sind honorarfrei.

Honorar für die „Besprechungen" 48,— DM je Druckbogen.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 6 bis 8 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 40 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 20,80 DM Einzelpreis 23,— DM

Literatur zur HCH- und Diën-Gruppe

Von Prof. Dr. R. RIEMSCHNEIDER
Chemisches Institut der Freien Universität Berlin

Liste III: 128 Seiten, kartoniert DM 25,—
Liste V: 56 Seiten, kartoniert DM 9,60

Diese Schriften enthalten das von dem Verfasser bis 31. Dezember 1951 registrierte Literaturmaterial über die Insektizide der HCH- und Diën-Gruppe. Die über 4000 Titel mit Angaben von Referenten sowie von Arbeitsschwerpunkten und behandelten Insektizid-Gruppen bedeuten für Wissenschaft und Praxis eine wichtige international zu wertende Unterstützung in ihrer vielseitigen Arbeit. Der größte Teil der Literaturangaben trägt einen Hinweis, ob der Schwerpunkt der Arbeit auf chemischem, physikalischem oder biologischem Gebiet zu suchen ist.

Zeitschrift für angewandte Entomologie

zugleich Organ der „Deutschen Gesellschaft für angewandte Entomologie e. V."

Begründet 1914 von Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. K. ESCHERICH

Herausgegeben von Prof. Dr. W. ZWÖLFER, München

Die „Zeitschrift für angewandte Entomologie" ist das führende internationale Publikationsorgan und damit der Mittelpunkt für die gesamten wissenschaftlichen Forschungen und Interessen auf diesem Gebiet. Ihre Originalbeiträge umfassen Forschungen aus dem Gesamtgebiet der angewandten Entomologie. Grundlagenforschung und Fragen ihrer praktischen Anwendung kommen dabei zu Wort. Sie machen den Hauptteil der Zeitschrift aus und betreffen alle wirtschaftlich schädlichen oder krankheitserregenden bzw. -übertragenden Insekten sowie die Möglichkeit ihrer Bekämpfung mit biologischen, technischen oder chemischen Mitteln, ferner Forschung über unmittelbar oder mittelbar nützliche Arten, wie Bienen, Seidenraupen, Lackschildläuse und andere Rohstofflieferanten, unter den Kerbtieren.

Erscheinungsweise: jährlich etwa 6 Hefte, der Band zu 4 Heften, in zwangloser Folge, das Heft umfaßt etwa 8 Druckbogen. Bezugspreis: je Druckbogen (16 Seiten) etwa DM 3,—. Die Hefte werden einzeln berechnet.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Handbuch der Pflanzenkrankheiten

Begründet von PAUL SORAUER

herausgegeben von

Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Dr. h. c. O. APPEL †, Prof. Dr. H. BLUNCK
und Prof. Dr. H. RICHTER

II. Band: Die Virus- und Bakterienkrankheiten

6. Auflage in 2 Lieferungen

1. Lieferung

Die Viruskrankheiten

neubearbeitet von

Ob.-Reg.-Rat Dr. E. Köhler, Braunschweig, und Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben

1954. 786 Seiten mit 326 Abbildungen, Ganzleinen DM 150,—

Dieses Werk ist eine moderne Darstellung der pflanzlichen Viruskrankheiten, wie sie in dieser Vollständigkeit an anderer Stelle nicht existiert. Alle bisher bekannt gewordenen Synonyme der einzelnen Viren und Wirtspflanzenkreise sind aufgeführt. Nicht restlos geklärte Fälle, in denen der Charakter der Viruskrankheit zwar mit großer Wahrscheinlichkeit vermutet werden kann, der exakte Beweis aber noch fehlt, wurden mit aufgenommen.

Für alle auf diesem Fachgebiet Tätigen ist dieses Standardwerk ein unentbehrliches Rüstzeug.

Die 2. Lieferung behandelt die Bakterienkrankheiten und erscheint 1955.

Die Lieferungen sind einzeln käuflich. Bei Verpflichtung zur Abnahme beider Lieferungen ermäßigt sich der Preis um 10 %.

Krankheiten und Schädlinge der Kulturpflanzen und ihre Bekämpfung

Für Praxis und Studium

Von

Prof. Dr. H. Braun
Direktor des Instituts für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn

und

Dr. E. Riehm
Präsident i. R. der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft

7., neubearbeitete Auflage, 1953. 348 Seiten mit 290 Textabbildungen, broschiert DM 24,80, Ganzleinen DM 26,80

Der Braun-Riehm ist, wachsend mit der Bedeutung des Pflanzenschutzes, der Zunahme an Erkenntnissen und Fortschritten in den Bekämpfungsmethoden, zu einem international geachteten Standardwerk geworden.

„Der BRAUN-RIEHM ist unbestritten das beste deutsche Buch, das einen Überblick über das Gesamtgebiet der Auswirkung von Krankheiten und Schädlingen an unseren Kulturpflanzen gibt, nicht zuletzt durch seine hervorragende Ausstattung mit Bildmaterial, das in der vorliegenden Auflage eine wesentliche Erweiterung und Verbesserung erfahren hat."
Berichte über die gesamte Biologie

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Verlag Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstr. 44-47, Tel. 61 44 68/69. Herausgeber Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Straße 19. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten.

— Erscheinungsweise: Jährlich etwa 6 bis 8 Hefte (4 Hefte = 1 Band).

BAND 23, HEFT 2 MÄRZ 1955

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. Takewo Hemmi, Kyoto / Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. Köhler, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Canberra / Prof. Dr. H. M. Quanjer, Wageningen Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest / Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann Zürich

M. Klinkowski Aschersleben

H. Richter Berlin-Dahlem

Mit 44 Abbildungen

1955

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 23, Heft 2, *S. 113—220, Berlin 1955*

INHALT

Abhandlungen

TURIAN, G., Recherches sur la nutrition, la variation et les propriétés antibiotiques de *Chaetomella horrida* Oud. Avec 5 figures 113

GASSNER, G. und NIEMANN, E., Über die Beeinflussung der Sporenkeimung des Zwergsteinbrandes und Roggensteinbrandes durch verschiedene Chemikalien. Mit 2 Abb. 121

GÄUMANN, E. und NAEF-ROTH, ST., Die Dosis-Effekt-Beziehungen bei Lycomarasmin und Komplexon III. Mit 2 Abb. und 2 Tabellen 141

GÄUMANN, E. und NAEF-ROTH, St., Über die chelierende Wirkung einiger Welketoxine. II. Die Verschiebungen der Toxizität durch steigende Zusätze von Asche aus jungen Tomatensprossen. Mit 3 Abb. und 8 Tabellen 147

CANOVA, A., Una nuova forma di giallume della barbabietola. 10 Figure 161

FLÜCK, V., Untersuchungen über die Pathogenität von Erregergemischen bei Getreidefußkrankheiten. Mit 14 Abb. 177

QUANTZ, L., Ein Ringfleckenvirus von Buschbohnen. Mit 8 Abb. 209

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.

„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.

Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19.

Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.

Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Richter, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Richter vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die drei ersten Bogen honoriert; Dissertationen sind honorarfrei.

Honorar für die „Besprechungen" 48,— DM je Druckbogen.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 6 bis 8 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 21,40 DM Einzelpreis 23,60 DM

Für die nächsten beiden Hefte sind folgende Arbeiten vorgesehen:

BHATTACHARYJA, S. S. und LINSKENS, H. F.: Über den Einfluß von „Systox", „Metasystox" und „Pestox" auf die Kerne und Chromosomen von *Vicia faba.*

GASSNER, G. und NIEMANN, E.: Synergistische und antagonistische Wirkung von Pilzen und Bakterien auf die Sporenkeimung verschiedener *Tilletia*-Arten.

GOLLMICK, F.: Untersuchungen über die Blattbräune (Melanose) der Reben.

GRÜMMER, G.: Die Beziehungen zwischen dem Eiweißstoffwechsel von Kulturpflanzen und ihrer Anfälligkeit gegen parasitische Pilze.

BARTELS, W.: Der gegenwärtige Stand der Forschung auf dem Gebiet der Inaktivierung pflanzenpathogener Viren, insbesondere des Tabakmosaikvirus.

KLINKOWSKI, M., KÖHLER, H. und SCHRÖDTER, H.: Möglichkeiten der Desinfektion fettfleckenkranken Bohnensaatgutes durch Antibiotika unter Berücksichtigung des Einflusses meteorologischer Faktoren.

BRUHIN, A.: Über die polyploidisierende Wirkung eines Samenbeizmittels.

STALDER, L.: Beobachtungen über das Verhalten von *Podosphaera leucotricha* (Ellis et Everh.) Salm. in Apfelknospen.

Soeben erschien:

Biochemie der Spurenelemente

Von Prof. Dr. K. SCHARRER
Direktor des Agrikulturchemischen Instituts der Justus Liebig-Hochschule, Gießen

Dritte, vollständig neubearbeitete Auflage
412 Seiten und 8 farbige Tafeln. In Ganzleinen DM 39,60

Das für dieses Gebiet der physiologischen Chemie grundlegende deutschsprachige Standardwerk vermittelt eine dem heutigen Stand der Wissenschaft entsprechende Kenntnis der Spurenelemente und ermöglicht so einen tieferen Einblick in das biochemische und biologische Geschehen. Es erschien vor dem Kriege in zwei rasch aufeinanderfolgenden Auflagen. Die Neuauflage wurde dem schnellen Fortschreiten der Forschung entsprechend völlig umgearbeitet und erweitert. Die Darstellung umfaßt alle bisher als wichtig für das Gedeihen von Pflanze, Mensch und Tier erkannten Mikronährstoffe in ihrer Wirkung und Bedeutung für die Organismen und darüber hinaus auch andere Spurenelemente, deren Lebensnotwendigkeit noch nicht erwiesen ist. Die vom Organismus, wenn auch nur in äußerst geringen Mengen als Mikronährstoffe benötigten Elemente, wie Bor, Kupfer, Mangan usw., sind für den Ablauf der Lebensvorgänge ausschlaggebend. Ihr Fehlen führt nicht nur zu Ernährungsstörungen, sondern zu schweren Mangelkrankheiten bei Tier und Pflanze. Eine deutliche Demonstrierung dieser Schäden stellen die neu aufgenommenen Farbtafeln dar. In einer Gegenüberstellung von gesunden und kranken Pflanzen werden darauf einige charakteristische Mangelkrankheiten mit ihren besonderen Merkmalen gezeigt. Sie sollen dem Leser den Blick schärfen, um auftretende Krankheiten rechtzeitig zu erkennen und die nötigen Gegenmaßnahmen einleiten zu können. Das Literaturverzeichnis ist dem Charakter des Werkes entsprechend sehr reichhaltig. Erstmalig in deutscher Sprache wurde das weit verstreute in- und ausländische Schrifttum zusammengefaßt und nach Elementen geordnet in mehr als 2600 Literaturzitaten aufgeführt. Dieses moderne Nachschlagewerk zeigt ein großes Arbeitsprogramm auf, dessen Lösung zur besseren Ernährung von Pflanze, Tier und Mensch beiträgt.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Standardwerke des Pflanzenschutzes

Krankheiten und Schädlinge der Kulturpflanzen und ihre Bekämpfung

Für Praxis und Studium

Von

Prof. Dr. H. Braun
Direktor des Instituts für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn

und

Dr. E. Riehm
Präsident i. R. der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft

7., neubearbeitete Auflage, 1953. 348 Seiten mit 290 Textabbildungen, broschiert DM 24,80, Ganzleinen DM 26,80

Der Braun-Riehm ist, wachsend mit der Bedeutung des Pflanzenschutzes, der Zunahme an Erkenntnissen und Fortschritten in den Bekämpfungsmethoden, zu einem international geachteten Standardwerk geworden. Praxis und Studium erhalten einen wirklich auf der Höhe der Zeit stehenden Überblick über die Erkenntnisse und Erfahrungen auf dem Gebiete der Phytomedizin.

„Der BRAUN-RIEHM ist unbestritten das beste deutsche Buch, das einen Überblick über das Gesamtgebiet der Auswirkung von Krankheiten und Schädlingen an unseren Kulturpflanzen gibt, nicht zuletzt durch seine hervorragende Ausstattung mit Bildmaterial, das in der vorliegenden Auflage eine wesentliche Erweiterung und Verbesserung erfahren hat."
Berichte über die gesamte Biologie

Krankheiten und Schädlinge im Obstbau und ihre Bekämpfung

Von Prof. Dr. W. Kotte
Direktor des Staatlichen Instituts für Pflanzenschutz in Freiburg i. Br.

2., neubearbeitete Auflage, 1948. 337 Seiten mit 213 Abbildungen und 8 farbigen Tafeln, in Halbleinen geb. DM 25,60

Das bewährte Buch gibt jedem, der Obstbau treibt oder in ihm lehrend oder lernend tätig ist, die biologischen und technischen Kenntnisse in die Hand, um den Kampf gegen Krankheiten und Schädlinge durchzuführen und damit höhere und gütemäßig bessere Ernten erzielen zu können.

„Das Buch stellt doch wohl die beste zusammenfassende Bearbeitung des Gegenstandes dar, die wir zur Zeit haben." Nachrichtenblatt der Biologischen Bundesanstalt Braunschweig

Vom gleichen Verfasser:

Krankheiten und Schädlinge im Gemüsebau und ihre Bekämpfung

2., völlig neubearbeitete Auflage, 1952.
288 Seiten mit 186 Abbildungen und 8 Farbtafeln. In Ganzleinen DM 27,—

Das Buch des als Wissenschaftler und Praktiker bekannten Autors vermittelt in seiner neuen Auflage in erweiterter Form die notwendigen Kenntnisse zur Erkennung und Bekämpfung von Krankheiten und Schädlingen in den Gemüsekulturen. Die durch die neuzeitlichen Insektengifte und technischen Geräte eröffneten Möglichkeiten werden in ihrer überragenden Bedeutung eingehend gewürdigt.

„Im neuen Kotte liegt nunmehr wieder ein repräsentatives Handbuch für den fortschrittlichen Gemüsebauer vor, das rückhaltlos empfohlen werden kann." Pflanzenschutz

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Verlag Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstr. 44-47, Tel. 61 44 68/69. Herausgeber Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Straße 19. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36. Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten. — Erscheinungsweise: Jährlich etwa 6 bis 8 Hefte (4 Hefte = 1 Band).

BAND 23, HEFT 3 APRIL 1955

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. Takewo Hemmi, Kyoto / Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. Köhler, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Canberra / Prof. Dr. H. M. Quanjer, Wageningen Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest / Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann Zürich

M. Klinkowski Aschersleben

H. Richter Berlin-Dahlem

Mit 38 Abbildungen

1955

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 23, Heft 3, *S. 221—344, Berlin 1955*

INHALT

Abhandlungen

GUSTAV GASSNER † 221

BHATTACHARYJA, S. S. und LINSKENS, H. F., Über den Einfluß von „Systox", „Metasystox" und „Pestox" auf die Kerne und Chromosomen von *Vicia faba*. Mit 9 Abb. 233

GOLLMICK, F., Untersuchungen über die Blattbräune (Melanose) der Reben. Mit 19 Abb. 249

KÖHLER, E., Beitrag zum Prämunitätsproblem; Studien am Tabakmosaik. Mit 2 Abb. 323

KÖHLER, E., Weitere Beiträge zur Kenntnis des Y-Virus der Kartoffel. Mit 2 Abb. 328

BALDACCI, E., BETTO, E., AMICI, A., Il Metabolismo del fosforo nei tessuti verdi lesionati studiato con P^{32} 335

Kurze Mitteilungen

STALDER, L., Beobachtungen über das Verhalten von *Podosphaera leucotricha* (Ellis et Everh.) Salm. in Apfelknospen. Vorl. Mitt. Mit 5 Abb. 341

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.

„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.

Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19.

Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.

Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Richter, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Richter vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die drei ersten Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 8 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 24,— DM Einzelpreis 26,— DM

Folgende Arbeiten werden in den nächsten Heften der

PHYTOPATHOLOGISCHEN ZEITSCHRIFT

erscheinen

KLINKOWSKI, M., KÖHLER, H. und SCHRÖDTER, H.: Möglichkeiten der Desinfektion fettfleckenkranken Bohnensaatgutes durch Antibiotika unter Berücksichtigung des Einflusses meteorologischer Faktoren.

BRUHIN, Dr. A.: Über die polyploidisierende Wirkung eines Samenbeizmittels.

GASSNER, G. † und NIEMANN, E.: Synergistische und antagonistische Wirkung von Pilzen und Bakterien auf die Sporenkeimung verschiedener *Tilletia*-Arten.

JAENICHEN, H. und HEIMANN, M.: Untersuchungen über eine Anwendungsmöglichkeit des Ultraschalls in der Phytotherapie (Ultraschallbehandlung zur Abtötung parasitischer Pilze und Bakterien im Innern von Samen, Früchten und Fruchtständen).

GRÜMMER, Dr. G.: Die Beziehungen zwischen dem Eiweißstoffwechsel von Kulturpflanzen und ihrer Anfälligkeit gegen parasitische Pilze.

HEROLD, F.: Die Kranzfäule (Blattrandbrand) der Endivie.

PERSSON, A.: Kronenmykose der Hybridaspe (I. Untersuchungen über Auftreten, selektive Wirkung und Pathogenität des Erregers).

BARTELS, Dr. W.: Der gegenwärtige Stand der Forschung auf dem Gebiet der Inaktivierung pflanzenpathogener Viren, insbesondere des Tabakmosaikvirus.

COSTA, A. S.: Studies on Abutilon Mosaic in Brazil.

HARTWICH, Dr. W.: Untersuchungen über die Entwicklung des *Uromyces pisi* (DC.) Otth auf *Euphorbia cyparissias* L.

Grundriß der Forstpathologie

Von Prof. Dr. F. SCHWERDTFEGER

1950. 210 Seiten mit 139 Abbildungen. In Ganzleinen DM 13,60

Der „Grundriß" vermittelt einen alles Wesentliche umfassenden Überblick über die Grundtatsachen der Waldkrankheitslehre. Insbesondere macht er mit den wirtschaftlich wichtigen Krankheiten und Schädigungen des Waldes, mit ihrer Entstehung, ihrem Verlauf und ihren Auswirkungen sowie den Möglichkeiten ihrer Verhütung und Bekämpfung eingehend bekannt. Die textliche Darstellung ist kurz und prägnant gefaßt und durch viele instruktive Abbildungen unterstützt. Wer sich rasch und gründlich über die einschlägigen Fragen orientieren will, wird dieses reich illustrierte Buch gern zur Hand nehmen.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Soeben erschienen:

Die Bestimmung von Insektenschäden im Walde

nach Schadensbild und Schädling

Von Prof. Dr. ERWIN SCHIMITSCHEK
Direktor des forstzoologischen Instituts der Universität Göttingen

196 Seiten mit 290 Abbildungen. Kunstdruckpapier. In Ganzleinen DM 19,80

Dieses Buch über die Erkennung der Insektenschäden im Walde ist auf Anregung der forstlichen Praxis entstanden und trägt einem lang geäußerten Bedürfnis Rechnung. Es ermöglicht die Bestimmung des Schädlings nach dem Schadensbild und — soweit dies nötig ist — nach dem fressenden, den Schaden verursachenden Stadium des betreffenden Insekts. Um die Bestimmung jeweils rasch und ohne Schwierigkeiten zu gewährleisten, gliederte der Verfasser den Text einerseits nach dem Auftreten des Schadens in Pflanzgärten, Saaten, Kulturen, älteren Beständen und in trockenem gelagertem oder verbautem Holz, andererseits nach den einzelnen Holzarten. Es wurden nicht nur die wichtigen Laub- und Nadelhölzer (einschließlich der Kanadapappel und Weidenheger) berücksichtigt, sondern auch Hasel, Weißdorn und Obstbäume. Dabei beschränkt sich der Inhalt nicht auf Forstinsekten eines engbegrenzten Gebietes, sondern ermöglicht es, die Insektenschäden im mitteleuropäischen Walde sowohl in der Ebene als auch im Mittelgebirge und in den Alpen richtig anzusprechen.

Die reiche Ausstattung mit fast durchweg neuen Abbildungen von Freßschäden und fressenden Stadien (insgesamt 290 Abbildungen auf 54 Bildseiten) erleichtert die Benutzung der Tabellen und die Bestimmung des Schadensbildes. Das auf Erfahrungen der Forstpraxis aufgebaute und dem neuesten Stand des Wissens Rechnung tragende Buch ist sowohl für den praktischen Forstmann wie für den Forststudenten geschrieben und wird auch dem Waldbesitzer wie dem waldverbundenen Naturfreund wertvolle Dienste leisten.

Vocabularium polygottum vitae silvarum

Waldbiologisches Fachwörterbuch
auf der Grundlage der wissenschaftlichen Nomenklatur

Latein — Deutsch — Französisch — Englisch — Spanisch — Russisch

Von RISA VON LITSCHAUER
Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft, Reinbek

126 Seiten. In Ganzleinen DM 24,—

Von der wissenschaftlichen lateinischen Nomenklatur ausgehend, gibt das Fachwörterbuch die Bezeichnungen von Pflanzen, Tieren, Krankheiten, Schädlingen und anderen waldbiologischen Begriffen in fünf Weltsprachen wieder. Das Werk ist auf der Basis langjähriger Erfahrungen in Zusammenarbeit mit in- und ausländischen Fachleuten geschrieben und berücksichtigt im besonderen die Fachausdrücke, die in den landläufigen Wörterbüchern nicht verzeichnet stehen. Fünf Register ermöglichen die Feststellung von jeder der fünf Sprachen aus.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Verlag Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstr. 44-47, Tel. 61 44 68/69. Herausgeber Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2. Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Straße 19. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36. Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten. — Erscheinungsweise: Jährlich etwa 8 Hefte (4 Hefte = 1 Band).

BAND 23, HEFT 4 MAI 1955

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. Takewo Hemmi, Kyoto / Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. Köhler, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Canberra / Prof. Dr. H. M. Quanjer, Wageningen Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest / Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann Zürich

M. Klinkowski Aschersleben

H. Richter Berlin-Dahlem

Mit 57 Abbildungen

1955

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 23, Heft 4, *S. 345—472, Berlin 1955*

INHALT

Abhandlungen

KLINKOWSKI, M., KÖHLER, H. und SCHRÖDTER, H., Möglichkeiten der Desinfektion fettfleckenkranken Bohnensaatgutes durch Antibiotika unter Berücksichtigung des Einflusses meteorologischer Faktoren. Mit 17 Abb. 345

BRUHIN, A., Über die polyploidisierende Wirkung eines Samenbeizmittels. Mit 12 Abb. und 2 Darstellungen 381

GASSNER †, G. und NIEMANN, E., Synergistische und antagonistische Wirkung von Pilzen und Bakterien auf die Sporenkeimung verschiedener *Tilletia*-Arten. Mit 10 Abb. 395

JAENICHEN, H. und HEIMANN, M., Untersuchungen über eine Anwendungsmöglichkeit des Ultraschalls in der Phytotherapie. Mit 13 Abb. 419

Kurze Mitteilungen

ROSENSTOCK, G., Physiologische und anatomische Studien zum Problem der Wundsetzung bei Speichergeweben. Mit 1 Abb. 463

KÖNIGSMANN, E., Mißbildungen des Blütenstandes bei *Phleum pratense*. Mit 4 Abb. .. 468

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.

„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.

Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19.

Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.

Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Richter, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Richter vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die drei ersten Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 8 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 24,— DM Einzelpreis 26,— DM

Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft / Berlin - Dahlem

Herausgegeben
von der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem

Heft 80 **29. Pflanzenschutz-Tagung**
der Biologischen Bundesanstalt Braunschweig in Heidelberg, 5. bis 9. Oktober 1953.
1954. 178 S. m. 30 Abb. und 8 Tab., kart. DM 17,—

Heft 81 **Pflanzliche Virusforschung**
Vorträge gehalten anläßlich der Einweihung des neu errichteten Dienstgebäudes der Abteilung für pflanzliche Virusforschung der Biologischen Bundesanstalt Braunschweig am 23. Februar 1954.
1954. 51 S. m. 13 Abb., kart. DM 6,—

Heft 82 **Geometrische Figuren und ihre Anwendbarkeit auf Düsen-Flüssigkeitsstrahlen bei mehrdüsigen Pflanzenschutzgeräten zwecks Wahl des richtigen Düsenabstandes zur Erzielung bestmöglicher Flüssigkeitsverteilung**
Von Dr. H. KOCH
1954. 38 S. m. 35 Abb. und einem Anhang mit 9 Tabellen, kart. DM 9,—

Heft 83 **30. Pflanzenschutz-Tagung**
der Biologischen Bundesanstalt in Bad Neuenahr, 11. bis 16. Oktober 1954.
1955. 175 S. m. 34 Abb., kart. DM 17,—

Bibliographie der Pflanzenschutzliteratur 1940—1945

Herausgegeben von der Biologischen Zentralanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Berlin-Dahlem

Bearbeitet von Dr. J. BÄRNER

2 Bände, 1356 Seiten, brosch. DM 97,—

Die „Bibliographie der Pflanzenschutzliteratur" erschien erstmalig im Jahre 1921. Bis 1944 wurden fortlaufend 21 Bände herausgegeben, die eine Zusammenfassung der gesamten Weltliteratur des Pflanzenschutzes bis zum Jahre 1939 enthielten.
In Fortsetzung dieser Veröffentlichungen erscheint hiermit eine Literaturzusammenfassung für die Jahre 1940—45. Weitere sollen in kurzen Abständen folgen, wobei zunächst die Veröffentlichung der Literatur der Jahre 1946 und 1951 vorbereitet wird. Auf diese Weise soll einerseits die noch vorhandene Lücke in der Literaturnachweisung baldigst geschlossen und andererseits die moderne Pflanzenschutzliteratur möglichst schnell laufend und vollständig der wissenschaftlichen Welt zugängig gemacht werden. Die beiden vorliegenden Bände enthalten etwa 26 900 Literaturzitate und ein Autorenverzeichnis von über 11 000 Namen.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Handbuch der Pflanzenkrankheiten

Begründet von PAUL SORAUER

In sechs Bänden herausgegeben von

Prof. Dr. Dr. h. c. O. APPEL †
Geh. Reg.-Rat, Präsident a. D. der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft

Prof. Dr. H. BLUNCK
ehem. Direktor des Instituts für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn

Prof. Dr. H. RICHTER
Präsident der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft

II. Band:
Die Virus- und Bakterienkrankheiten

6. Auflage in zwei Lieferungen

1. Lieferung

Die Viruskrankheiten

bearbeitet von Ob.-Reg.-Rat Dr. E. KÖHLER und Prof. Dr. M. KLINKOWSKI

1954. 786 Seiten mit 326 Abbildungen. In Ganzleinen DM 150,—

„Im übrigen muß uneingeschränkt und dankbar anerkannt werden, daß hier eine kritische Übersicht über unsere derzeitigen Kenntnisse von den Pflanzenviren vorliegt, wie sie in dieser Vollkommenheit und Klarheit bisher nicht existiert. Da auch der größte Teil der Abbildungen als hervorragend, die übrige Ausstattung des Bandes als nicht minder lobenswert zu bezeichnen ist und ein ausführliches Sachregister den Gebrauch desselben erleichtert, scheint eine besondere Empfehlung zur Anschaffung kaum noch notwendig."

Dr. C. Stapp in „Zentralblatt für Bakteriologie"

„Der vorliegende Band bedeutet einen Markstein in der Geschichte der Virusforschung und gehört in die Hand eines jeden biologisch oder phytopathologisch Interessierten."

Dr. H. A. Uschdraweit in „Angewandte Botanik"

2. Lieferung

Die Bakterienkrankheiten

bearbeitet von Ob.-Reg.-Rat Dr. C. STAPP

In Vorbereitung. Erscheint voraussichtlich Ende 1955

Die Lieferungen des II. Bandes sind einzeln käuflich. Bei Verpflichtung zur Abnahme beider Lieferungen ermäßigt sich der Einzelpreis der Lieferungen um 10 %.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Verlag Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstr. 44-47, Tel. 61 44 68/69. Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Straße 19. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36. Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten. — Erscheinungsweise: Jährlich etwa 8 Hefte (4 Hefte = 1 Band).